ميكروبيولوجيا التربة الزراعية

دكتور
حسين عبد الله محمد الفضالى
أستاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجيا
كلية الزراعة بدمياط - جامعة المنصورة

الطبعة الأولى
٢٠٠٨

ميكروبيولوجيا التربة الزراعية

دكتور
حسين عبد الله محمد الفضالى
استاذ ورنيس قسم الميكروبيولوجيا
كنية الزراعة بدمياط – جامعة المنصورة

الطبعة الأولى
٢٠٠٨

عنوان الكتاب : ميكروبيولوجيا التربة الزراعية
المؤلف : أ.د/ حسين عبد الله محمد الفضالى
الناشر : مكتبة نانسى - دمياط
سنة النشر : ٢٠٠٨ م
رقم الطبعة : الأولى
رقم الإيداع : ٦٢٥١/ ٢٠٠٨ - 6251/ 2008
الترقيم الدولى : ٩ - ٥٩ - ٦١٨٦ - ٩٧٧
I.S.B.N 977 – 6186 – 59 - 9

إهـــــداء

إلى كل من علمنى حرفاً فى مشوار العلم الطويل
إلـى كـل أسـاتذتى الـذين بـذلوا جهـدهم مخلصـين
ليمهدوا لنا الطريق ويتخطوا بنـا العقبـات ويذللوا
لنـا الصـعاب ، أقـدم لهـم خـالص شـكرى وتقـديرى
لجهدهم وعرفانا منى بالجميل

المحتويات

المقدمة

Introduction



مقدمة

Introduction

من المعروف أن التربة ليست جسما ميتا نتج بسبب عوامل التعرية للصخور، بل هي جسم مليء بالحياة بما تحتويه من كائنات حية دقيقة وغير دقيقة تؤثر علي خواصها الطبيعية والكيميائية والبيولوجية. وبدون مبالغة يمكن القول بأنه لولا الميكروبات بالتربة لتوقفت الحياة علي سطح هذا الكوكب. فميكروبات التربة من بكتيريا وفطريات وطحالب وبروتوزوا، تلعب دورا أساسيا في المحافظة علي خصوبة التربة، وعلي إمداد النباتات النامية بإحتياجاتها الغذائية وزيادة إنتاجيتها، وذلك من خلال معدنتها للمواد العضوية، وتيسير العناصر الغذائية وتثبيت النيتروجين الجوي وإفراز الكثير من المواد المشجعة لنمو النباتات Growth promoting substances. كما أن تلك الميكروبات لها دوراً فعالا في المحافظة غلي التوازن البيولوجي في الكون عن طريق إنتاجها لثاني أكسيد الكربون CO_2 خلال عمليات تحلل المواد العضوية مما يعوض النقص الذي يحدث خلال عملية التمثيل الضوئي المستمرة، وفي تحلل ملوثات البيئة , وتحلل المبيدات الزراعية.

وقد تتنافس الميكروبات مع النباتات علي العناصر الغذائية الموجودة بالتربة في ظروف معينة أو تفرز سموما تؤثر علي نمو النباتات، أو تسبب أمراضاً لها، فتؤثر بذلك علي إنتاجيتها.

لذا كان من الضروري تفهم هذه العلاقات المتبادلة بين الميكروبات والأرض والنبات، وهذا ما يهدف إليه من دراسة هذا العلم "ميكروبيولجيا التربة الزراعية Soil Microbiology " ومعرفة نشاط الكائنات الحية الدقيقة فى التربة الزراعية . وقد ذكر الله تعالى فى كتابه العزيز أهمية التربة الزراعية والماء فى حياة الإنسان حيث قال تعالى فى كتابه العزيز وهو اصدق القائلين

بسم الله الرحمن الرحيم

وَاللَّهُ أَنزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَسْمَعُونَ (النحل ٦٥)

أَوَلَمْ يَرَ الَّذِينَ كَفَرُوا أَنَّ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضَ كَانَتَا رَتْقًا فَفَتَقْنَاهُمَا وَجَعَلْنَا مِنَ الْمَاءِ كُلَّ شَيْءٍ حَيٍّ أَفَلَا يُؤْمِنُونَ (الأنبياء ٣٠)

يَا أَيُّهَا النَّاسُ إِن كُنتُمْ فِي رَيْبٍ مِّنَ الْبَعْثِ فَإِنَّا خَلَقْنَاكُم مِّن تُرَابٍ ثُمَّ مِن نُّطْفَةٍ ثُمَّ مِنْ عَلَقَةٍ ثُمَّ مِن مُّضْغَةٍ مُّخَلَّقَةٍ وَغَيْرِ مُخَلَّقَةٍ لِّنُبَيِّنَ لَكُمْ وَنُقِرُّ فِي الْأَرْحَامِ مَا نَشَاءُ إِلَى أَجَلٍ مُّسَمًّى ثُمَّ نُخْرِجُكُمْ طِفْلًا ثُمَّ لِتَبْلُغُوا أَشُدَّكُمْ وَمِنكُم مَّن يُتَوَفَّى وَمِنكُم مَّن يُرَدُّ إِلَى أَرْذَلِ الْعُمُرِ لِكَيْلَا يَعْلَمَ مِن بَعْدِ عِلْمٍ شَيْئًا وَتَرَى الْأَرْضَ هَامِدَةً فَإِذَا أَنزَلْنَا عَلَيْهَا الْمَاءَ اهْتَزَّتْ وَرَبَتْ وَأَنبَتَتْ مِن كُلِّ زَوْجٍ بَهِيجٍ (الحج ٥)

وَجَعَلْنَا فِيهَا جَنَّاتٍ مِّن نَّخِيلٍ وَأَعْنَابٍ وَفَجَّرْنَا فِيهَا مِنَ الْعُيُونِ (يس ٣٣)

لِيَأْكُلُوا مِن ثَمَرِهِ وَمَا عَمِلَتْهُ أَيْدِيهِمْ أَفَلَا يَشْكُرُونَ (يس ٣٤)

وَمِنْ آيَاتِهِ أَنَّكَ تَرَى الْأَرْضَ خَاشِعَةً فَإِذَا أَنزَلْنَا عَلَيْهَا الْمَاءَ اهْتَزَّتْ وَرَبَتْ إِنَّ الَّذِي أَحْيَاهَا لَمُحْيِي الْمَوْتَى إِنَّهُ عَلَى كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ (فصلت ٣٩)

والله أسأل أن يؤدى هذا الكتاب الغرض المنشود منه في هذا المجال لأبنائى طلاب كليات الزراعة ومراكز البحث العلمى والمهتمين بمجال الزراعة ومتخصصى الميكروبيولوجيا، وأن يجعله عمل ينتفع به في ميزان حسناتى إنه سميع الدعاء.

المؤلف

الفصل الأول :

تركيب التربة الزراعية
وعلاقتها بالمجتمع الميكروبي

Soil Structure and its Relation with Microbial Population

الفصل الأول

تركيب التربة الزراعية وعلاقتها بالمجتمع الميكروبي

Soil Structure and its Relation with Microbial Population

تركيب التربة الزراعية Soil structure

من الناحية الايكولوجية فان التربة يسكنها كثير من الأحياء الميكروبية وعير الميكروبية , ولكن الأحياء الدقيقة الميكروبية هي التي تلعب الدور الرئيسي في إمداد النباتات بالعناصر الغذائية وتكوين CO_2 وتحتوي التربة علي عديد من المجموعات الميكروبية مثل:

Viruses. Bacteria. Actinomycetes. Fungi. Protozoa , Algae

وتتأثر الميكروبات التي تعيش في التربة الزراعية بمكونات هذه التربة وظروفها الطبيعية والكيميائية كثيرا , وبصفة عامة فان التربة تتكون من خمسة مكونات أساسية وهي الجزء المعدني , الجزء العضوي , الماء الأرضى (محلول التربة) , الهواء الأرضى , أحياء التربة.

أولا : الجزء المعدني Mineral part

وهذه الحبيبات **Particles** (الجزيئات) تنتج عن عملية تعرية Erosion الصخور في صورة حبيبات مختلفة الأحجام , وهذا يؤدي إلى أن تتكون الأرض من خليط من حبيبات معدنية ذات أقطار مختلفة تتراوح من ٠,٠٠٢ ملليمتر حتى ٢,٠ ملليمترا أو أكبر. الحبيبات ذات أقطار أكبر من ٥٠ ميكرون تمثل الرمل بنوعيه خشن وناعم والحصي - الحبيبات ذات أقطار تتراوح من

٢-٥٠ ميكرون تمثل السلت Silt أما الحبيبات ذات أقطار أقل من ٢ ميكرون تمثل الطين ونسب هذه الحبيبات إلى بعضها هو الذي يحدد قوام الأرض Soil texture .

ومن الحبيبات الداخلة في تركيب قوام الأرض يعتبر حبيبات الطين أهمها . فهي تتميز بسطح كبير بالنسبة لوزنها , ولها تأثيرات كبيرة على الصفات الطبيعية والكيميائية , وبالتالي على النشاط البيولوجي فيها .

ومعادن الطين لها تركيب بللوري طبقي ذو سطح نوعي Specific surface كبير , ويختلف السطح النوعي باختلاف معدن الطين Clay (Montmorillonite or illite or kaolinite) ولقد ثبت ان معادن الطين لها تأثيرات مختلفة على ميكروبات التربة.

وحبيبات التربة لا توجد عادة في صورة منفردة , بل تكون في صورة تكتلات Aaggregates بدرجات مختلفة. ودرجة تكوين هذه التكتلات تحدد بناء التربة Soil structure ويلاحظ أن الميكروبات تلعب دورا اساسيا في بناء التربة حيث يقوم ميسيليوم الفطريات والاكتينومايستات بتجميع الحبيبات لتكوين الـ aggregates كما تلعب السكريات العديدة Polysaccharides والمواد اللزجة الأخرى التي تكونها البكتيريات دورا كبيرا في تكوينها , ودرجة الـ Aggregation وحجمها ونظام تكوينها يؤثر من ناحية أخرى على النشاط الميكروبي لما له من انعكاس على التهوية Aeration .

ثانيا : المادة العضوية Organic material

تصل المواد العضوية ذات الأصل النباتي أو الحيواني إلى التربة باستمرار , كما تصل اليها عديد من المركبات الجديدة نتيجة للنشاط الانساني وخلال العمليات الزراعية مثل إضافة الأسمدة والمخلفات وبقايا النباتات

ومبيدات الحشائش والحشرات والفطريات . والمواد العضوية المختلفة التي تصل إلى التربة تتعرض للفعل الميكروبي المستمر , وفي النهاية يتكون الدبال Humus , والأخير له أهمية كبيرة في مستوي خصوبة التربة ومستوي إنتاجيتها إذ يعتبر المخزن الرئيسي الذي تستمد منه الميكروبات غذائها سواء بطريقة مباشرة , أو غير مباشرة , علاوة علي تأثيره في قدرة التربة علي الاحتفاظ بالماء Water Holding Capacity (WHC) وسعته التبادلية العالية High Ion Exchange Capacity (IEC) وقدرته التنظيمية Buffering Capacity (BC) وغيرها من التأثيرات التي تنعكس علي النشاط البيولوجي بالتربة الزراعية.

ويحتوي الدبال Humus علي نسبة مرتفعة من اللجنين I egnin المواد المقاومة للتحلل الميكروبي , وذلك نظرا لإختفاء المواد السهلة التحلل تدريجيا مما يؤدي إلى تركيز المواد الصعبة التحلل في الدبال.

ونسبة المادة العضوية في التربة لها إنعكاس كبير علي أعداد ونشاط الميكروبات في التربة الزراعية، وعادة فإن الأراضي الفقيرة في المواد العضوية تحتوي علي أعداد قليلة من الميكروبات مقارنة مع التربة الغنية بالمادة العضوية. ولذلك فعادة ما يلاحظ وجود علاقة طردية مباشرة بين نسبة المادة العضوية وأعداد الميكروبات ما لم يكن هناك عامل يحد من نشاط وتكاثر الميكروبات بالتربة مثل الملوحة أو القلوية أو غيرها من العوامل.

ثالثا : المكون السائل Liquid component

محلول التربة Soil solution له اهمية كبيرة بالنسبة للنشاط البيولوجي حيث من المعروف أن الماء تصل نسبته إلى ٩٠% من برتوبلازم الخلايا

الحية , كما أن أحياء التربة الدقيقة يتغذي أغلبها علي مركبات ذائبة في الماء تأخذها من الوسط المحيط بها من خلال الإنتشار الغشائي.

ويعتبر الماء الحر Gravitational water الذي يتحرك إلى أسفل مع الجاذبية والماء الشعري Capillary water ميسران للميكروبات. أما الماء الأسموزي Osmotic water وهو الممسوك بقوة أكبر حول الحبيبات فاقل قابلية للاستفادة. أما الماء الهيجروسكوبي Hygroscopic water فهو غير ميسر للميكروبات.

ومن المعروف أن وجود نسبة عالية من الأملاح Salts في الماء الأرضي كما في الأرض الملحية يجعل الماء غير ميسر للميكروبات نتيجة الضغط الأسموزي العالي، ويعتبر هذا أحد العوامل الرئيسية التي تؤدي إلى قلة النشاط الميكروبي في الأرض الملحية.

رابعا : الهواء الأرضي Soil air

من المعروف أن جو التربة Soil atmosphere نشأ عن الهواء الجوي ولكن الأول يختلف كثيرا بسبب تأثيرات العمليات البيولوجية التي تحدث بالتربة. وتتكون الحالة الغازية Gaseous phase (أو هواء التربة) أساسا من ثاني أكسيد الكربون , الأكسجين , النيتروجين . ولكن هواء التربة يكون مشبعا ببخار الماء ومحتواه من CO_2 أعلي كثيرا عن الهواء الجوي ومحتواه من O_2 يكون أقل. كما يحتوي الهواء الأرضي علي نسب من الأمونيا NH_3 والميثان CH_4 علاوة علي بعض المركبات المتطايرة. ويحدث باستمرار تبادل للغازات بين هواء الأرض والهواء الجوي. ومعدل حدوث التبادل بين الهواء الجوي وهواء التربة يتأثر بعوامل كثيرة فكلما كان قوام التربة خفيفا كلما كان معدل التبادل أسرع , كما أن معدل التبادل يزداد في الأرض التي تتغير فيها نسبة الرطوبة باستمرار ,

ويزداد معدل التبادل أيضا في المناطق التي تختلف فيها درجات الحرارة كثيرا بين الليل والنهار مما يؤدي إلى حدوث تمدد وانكماش مستمر في هواء التربة , كما يزداد معدل التبادل في حالة وجود رياح قوية وغيرها من العوامل.

ومن المؤكد أن هناك ارتباطا وثيقا بين الماء والهواء الأرضى إذ أن مسام الأرض Soil pore spaces تملأ بالماء أو الهواء بنسب مختلفة حسب نسبة الرطوبة فيها. وفي أغلب الأراضي تمثل المسامية Pore space حوالي ٥٠% من الحجم الكلي للأرض , وعلي ذلك فكلما زادت الرطوبة واتجهت نحو التشبع كلما قلت تهوية الأرض والعكس بالعكس. ومن المعروف أن محتوي الرطوبة في الأرض له تأثير واضح علي المحتوي الميكروبي فيها , وزيادة الرطوبة عن الدرجة الملائمة (٥٠- ٧٠% W.H.C) يحدث تأثيرا عكسيا حيث تقل درجة التهوية إلى حد كبير مما يكون له انعكاسا ضارا علي النشاط الميكروبيولوجي في التربة الزراعية. ويتجه التوازن الميكروبي لصالح الميكروبات اللاهوائية التي تنشط محللة للمواد العضوية تحللا غير كاملا منتجة مركبات وسطية قد تكون سامة للنباتات كما تختزل أملاح النترات والكبريتات والفوسفات, وتتحول إلى صور غير صالحة لتغذية النباتات. وذلك علاوة علي نمو البروتوزوا في الطبقة السطحية من التربة الغدقة وتتغذى علي البكتريا النافعة , وتكون الأحجام التي تشغلها مكونات أحد أنواع التربة الخصبة إلى الحجم الكلى كالآتى (%) : الجزء المعدنى ٥١ ، الجزء العضوى ٩ ، المسامية ٤٠ ، أحياء التربة ١.

وتختلف ميكروبات التربة في مدي تأثرها بالتغيرات التي تحدث في تركيب هواء التربة , فالبكتيريا الهوائية حتما Strict aerobes لا تنمو في غياب الأكسجين بينما الميكروبات اللاهوائية حتما Strict anaerobes لا تنمو في وجود الأكسجين. وهناك مجموعة أخرى من الميكروبات تفضل النمو في وجود

نسبة قليلة من الأكسجين وتسمي Microaerophiles أما الميكروبات الإختيارية Facultative organisms فإن تأثرها بوجود أو غياب الأكسجين يكون محدوداً.

الأحياء الدقيقة بالتربة الزراعية Soil microorganisms

تحتوي الأرض الخصبة علي أعداد كبيرة من الكائنات الحيـــة الدقيقـــة (جدول رقم ١) بينها وبين بعضها صورا مختلفة من العلاقـــات التعاونيـــة, التنافسية , التضادية وتكون أعداد الميكروبات في الأرض في تغير مستمر.

جدول رقم ١ : أعداد الكائنات الحية الدقيقة في نوع من الأراضي الزراعية الخصبة

المجموعة الميكروبية	العدد / ١جم تربة
Bacteria	
Direct count	2.500.000.000
Dilution plate	10.000.000
Actinomycetes	700.000
Fungi	400.000
Algae	50.000
Protozoa	30.000

ولهذا فهو يعطي صورة ديناميكية للنشاط البيولوجي في الأراضى الزراعية، وفيما يلي موجز عن إنتشار، وأعـــداد، وأهميـــة المجموعـــات الميكروبيـــة بالتربة.

البكتيريا Bacteria

تعتبر البكتيريا أكثر المجموعات الميكروبية وجوداً سواء من ناحية الأعداد أو عدد الأجناس والأنواع والنشاط , كما تعتبر البكتيريا أكثرهـا أهميـة فـي التغيرات الحيوية التي تحدث في الأراضي خصوصا في الأراضي المتعادلة أو المائلة قليلا للقلوية .

ومن ناحية أعداد البكتريا في التربة الزراعية فإنها تختلف كثيراً في التربـة الواحدة حسب الطريقة المستخدمة في تقدير الأعداد , كما أن طرق اخذ العينات والأعماق التي تؤخذ منها , بل ووقت أخذ العينة تؤثر كثيـراً فـي التقـديرات الميكروبيولوجية. ومن الوجهة الميكروبيولوجية، فان التربة الزراعيـة تعتبـر وسطا غير متجانس بشكل كبير , لذلك فان الاختلافات الايكولوجية في توزيـع البكتيريا في التربة الزراعية تكون كبيرة جداً.

ونظرا لصعوبة الحصول علي صورة متكاملـة للعلاقـات والأنشـطة المختلفة لبكتيريا التربة , فلقد تعددت طـرق الدراسـة وتنوعـت لتناسـب الأغراض المختلفة حيث يقاس نشاط الكائنات الحية الدقيقة بالتربة الزراعية عن طريق قياس معدل التنفس للتربة أو بتقدير مستوي المواد المحددة لنظام الأيض الميكروبي مثل ATP أو بتقدير نشاط بعض الإنزيمات الهامة مثـل الفوسفاتيز والديهيدروجينز , **وعادة تشمل الطرق ما يلي :**

١- دراسة النشاط البيولوجي في الأراضي بصفة عامة مثل دراسة معـدل تحلل المواد العضوية , أو دراسة معدل تنفس الميكروبات , أو قياس النشاط الإنزيمي في الأراضي الزراعية.

٢- دراسة أعداد وأنواع ميكروبات الأراضي , ومنها طرق ميكروسـكوبية مباشرة , وطرق مزرعية غير مباشرة , ويمكن بالطرق المزرعية دراسـة

الأعداد الكلية للمجموعات الميكروبية أو يمكن دراسة المجموعات الفسيولوجية المتخصصة Functional or physiological groups في التربة وذلك باستخدام بيئات غذائية مختلفة.

٣- طرق تعتمد علي دراسة قدرة الميكروبات علي إحداث تغييرات محدودة مثل معدل المعدنة Mineralization rate والقدرة التثبيتية للنتروجين الجوي Nitrogen fixing capacity الخ.

وتختلف أعداد وتوزيع البكتريا كثيرا في التربة الواحدة حسب الطريقة المستخدمة في التقدير , وعادة فان الطرق الميكروسكوبية تعطي أعدادا أعلي بكثير من **الطرق المزرعية لأسباب كثيرة منها :**

أ-الطرق الميكروسكوبية عادة لا تميز بين الميكروبات الحية والميتة مما يعطي أعدادا أكبر من الواقع. بينما الطرق المزرعية تعطي أعدادا أقل من الواقع بكثير، وذلك لجمله أسباب من أهمها أنه يستحيل تحضير بيئة غذائية في المعمل تغطي كل الاحتياجات الغذائية لجميع الأنواع الموجودة في التربة. حيث أن هذه الميكروبات تختلف كثيرا في احتياجاتها الغذائية , فمنها ما يستطيع النمو علي بيئات غذائية بسيطة , ومنها ما له إحتياجات غذائية شديدة التعقيد ويصعب توفيرها في البيئة لتستطيع النمو . كما أن ظروف التحضين وظروف البيئة الغذائية لا توفر أنسب الظروف لكل الميكروبات التي تعيش في التربة , وبذلك لا ينمو في الدراسات المزرعية إلا الأنواع التي يناسبها الظروف المستخدمة في الدراسة.

ب- ومن الأسباب التي تجعل الدراسات المزرعية تعطي أعدادا اقل من الواقع أيضا إننا نعتبر كل مستعمرة Colony ميكروبية نامية علي أطباق العد إنها ناتجة عنة نمو خلية ميكروبية واحدة . وطبعا يكون الواقع غير

ذلك , إذ قد تنمو المستعمرة من خلية واحدة أو سلسلة من الخلايا أو كتلة من الخلايا حسب ظروف تواجد الميكروبات بالتربة الزراعية.

لكن الطرق الميكروسكوبية عادة ما تتميز عن الطرق المزرعية في إنها تعطي صورة اكثر وضوحا لتوزيع البكتريا في التربة وخصوصا عندما تستخدم هذه الطرق علي التربة في موضعها الطبيعي In situ . ولقد أوضحت مثل هذه الدراسات أن البكتريا لا تتوزع بانتظام في كتلة التربة ، ولكنها عادة ما تتركز بأعداد كبيرة مكونه من مستعمرات حول الحبيبات الصغيرة المعدنية والعضوية المكونة للتربة الزراعية . وأن تركيز البكتريا يكون أكثر حول الحبيبات العضوية عن المعدنية ، كما أنه في وجود جذور النباتات فان البكتريا تتركز بشدة حول الشعيرات الجذرية وسطوح الجذور.

ومن الطرق الميكروسكوبية المباشرة ذات القيمة الكبيرة في دراسة توزيع بكتريا الأراضي تحت تأثير عوامل مختلفة ، طريقة الشريحة المطمورة Rossi-cholodny buried slide technique وتعتمد هذه الطريقة علي دفن شرائح زجاجية نظيفة في الجزء من التربة المراد دراسته وتركها لمدد محددة ثم سحبها ودراسة المجموعات الميكروبية عليها ميكروسكوبيا .

ولقد أظهرت مثل هذه الدراسات أن بكتريا التربة يحدث فيها اختلافات موسمية واضحة . ولقد أمكن دراسة الميكروبات النشطة أو المجموعات الميكروبية التي تتكون في ظروف معينة باستخدام تعديل لطريقة الشريحة المطمورة Buried slide وفيه يطمر (يدفن) في التربة شرائح مغطاة بطبقة من مواد غذائية محددة ، كما أمكن أيضا دراسة توزيع ونشاط بكتريا الأراضي بدفن قطعة من الوسط الذي تحلله الميكروبات مثل دفن قطعة من السليلوز لدراسة بكتريا تحليل السليلوز .

أما عن أعداد البكتريا في التربة الزراعية فلقد أظهـرت الدراسـات الميكروسكوبية المباشرة والتي مـن أهمهـا طريقـة Cohn وتعـديلاتها أن الأراضي الخصبة تحتوي علي أعداد تصل إلى 10^9/اجم ، وتعتبـر هـذه الأعداد كبيرة جداً إذا ما قورنت بالنتائج التـي تحصـل عليهـا بـالطرق المزرعية مثل طريقة العد بالأطباق Plate count method حيث يتضـح أن الأعداد بطريقة الميكروسكوب تكون في المتوسط عشرة أضعاف تلك المقدرة بالأطباق بل إنها قد تصل إلى ١٠٠-١٠٠٠ ضعف وذلـك حسـب الوسـط الغذائي المستخدم في العد بالأطباق وظروف التربة التي يجري فيها العد .

وعادة ما يستعمل مسـتخلص التربـة Soil extract فـي البيئـات المستخدمة في تقدير العدد الكلي للبكتريا نظراً لما يحويه من أملاح معدنيـة ومواد عضوية تشجع نمو الميكروبات .

وهناك طرقاً مزرعية يستخدم فيها بيئات غذائية إنتقائيـة Selective media وهـذه تفيـد فـي دراسـة مجموعـات البكتريـا المتخصصـة فسيولوجيا Functional or Physiological groups. وعموما فـان أعـداد البكتريا المقدرة بطريقة الأطباق عادة ما تتراوح بين بضعة ملايين ومئـات الملايين في كل جرام من الأرض الخصبة . وإن الإختلافات في الأعداد بين تربة وأخرى تمثل انعكاسا لخواص التربة والعوامل البيئية السائدة في هـذه التربة . وكما سبق أن ذكرنا فان الأعداد التـي نحصـل عليهـا بـالطرق المزرعية تكون أقل بكثير من الواقع إذ قد بينت بعض الدراسات أن الطرق المزرعية لا تعطي اكثر من ١٠% من تعداد الميكروبات الموجودة بالتربـة الزراعية.

وعند حساب أعداد الميكروبات في التربة فإنها تنسب إلى التربة الجافة وذلك لتسهيل المقارنة ، ويزداد أهمية الحساب علي أساس التربة الجافة عند إجراء التقديرات في الأراضي الغدقة إذ أن أعداد الميكروبات تتضاعف عند حسابها علي أساس الوزن الجاف .

وبصرف النظر عن الطريقة المتبعة في التقدير فان أعداد البكتريا في التربة ليست ثابتة باستمرار. بل تتعرض لمتغيرات واسعة . ويحكم الأعداد في التربة الواحدة عوامل كثيرة من أهمها المحتوي الرطوبي ودرجة الحرارة ونوع النبات النامي وعمره والمعاملات المختلفة التي تتعرض لها التربة من حيث حرث وتسميد وإستصلاح وغيرها . كما أن زراعة التربة وما يتبع ذلك من عمليات زراعية مختلفة وتسميد ونمو النباتات وتحلل للجذور في التربة وافرازات هذه الجذور وبقاياها يؤثر تأثيراً واضحاً علي أعداد البكتريا في التربة . وبصفة عامة فان التربة المنزرعة تحتوي علي أعداد اعلي بكثير من التربة غير المنزرعة ويوضح جدول رقم ٢ تقديراً لأعداد المجاميع الميكروبية في التربة مقرونا بتقدير الكتلة الحية من كل مجموعة مكروبية . ومن الجدول يتضح أنه ولو أن البكتريا تعتبر أكثر تعداداً من أي من المجموعات الميكروبية الأخرى إلا أن الكتلة الحية للفطريات أكبر منها للبكتريا . كما يبين جدول رقم ٣ أعداد الميكروبات الممثلة للمجموعات الميكروبية الرئيسية في طبقات قطاع أرض ، ومنه نجد أن الأعداد بصفة علمة تتناقص بالعمق وربما يكون ذلك تمشيا مع التناقص في مستوي المادة العضوية بزيادة العمق .

جدول رقم ٢ : أعداد الميكروبات وكذا الكتلة الحية لكل مجموعة منها في الطبقة العليا (٠ – ١٥سم) من أحد أنواع الأراضي الزراعية – والتقديرات مأخوذة كمتوسط عن عدة مصادر.

Microbial groups المجموعات الميكروبية	عدد الكائنات / ١ جم تربة	Biomass g / m^2 الكتلة الحيوية
Bacteria	9.8×10^7	160
Actinomycetes	2.0×10^6	160
Fungi	1.2×10^5	200
Algae	2.5×10^4	32
Protozoa	3.0×10^4	38
Nematodes	1.5	12
Earthworms	0.001	80

جدول رقم ٣ : أعداد الكائنات الحية الدقيقة الممثلة للمجموعات الرئيسية والمتواجدة في الطبقات المختلفة من قطاع ارضى مقدرة بطريقة الأطباق .

Horizon	Humus	Depth Cm	Organisms / gram of soil $\times 10^3$				
			Aerobic bacteria	Actino-mycestes	Anaerobic bacteria	fungi	algae
A1	3.00	3-8	7.800	2.080	1.950	119	25
A2	1.28	20-25	1.804	245	379	50	5
A2-B1	0.91	35-40	472	49	98	14	0.5
B1	0.37	65-75	10	0.5	1	6	0.1
B2	0.41	135-145	1	—	0.4	3	—

مجاميع بكتريا التربة Bactecial groups in soil

كانت أول محاولة لتقسيم بكتريا التربة إلى مجموعات هي تلك التي قام بها Winogradsky ١٩٢٥م علي أساس النواحي الإيكولوجية حيث قسم بكتريا التربة إلى ثلاثة مجموعات رئيسية هي :

أولاً : كائنات متوطنة Autochthonous organisms

وهذه تمثل المجموعة البكترية الخاصة لكل تربة أي إنها Indigenous organisms وتتميز بأن إنتشارها في التربة لايتعرض لتغيرات كثيرة وتحصل علي إحتياجاتها الغذائية من المادة العضوية الموجودة أصلاً في التربة ولا تحتاج إلى مصادر خارجية .

ثانياً : كائنات مخمرة Fermentative organisms (Zymogenous)

وقد يطلق عليها Allochthonous organisms (Invaders) وهذه المجموعة تتميز بنشاطها الواسع في التغيرات البيولوجية والكيميائية التي تحدث في التربة الزراعية ، وعادة تكون أعدادها قليلة في الظروف العادية ثم تنشط بشدة عندما يضاف إلى التربة مصادر عضوية خارجية - وعلي ذلك فإن هذه المجموعة تحتاج إلى مصادر غذائية خارجية. وإضافة هذه المصادر يؤدي إلى تزايد اعدادها ثم تنخفض هذه الأعداد عند استهلاك المصادر العضوية الخارجية.

ثالثاً : كائنات منقولة Transient organisms

وهذه المجموعة تمثل الميكروبات المنقولة والتي تجد طريقها إلى التربة الزراعية من خلال التلقيح أو العدوى مثل بكتريا العقد الجذرية التي تلقح بها النباتات البقولية أو النجيلية ومثل البكتريا الممرضة للنباتات . وتتضمن

البكتريا الموجودة بالتربة أنواعا متباينة بالنسبة لمصادر الكربون والطاقة ، وكذلك فان التربة تحتوي علي مختلف المجموعات الرئيسية المعروفة ، وعلي هذا يمكن تقسيم بكتريا التربة بالنسبة لمصادر الكربون والطاقة إلى الأقسام الرئيسية التالية :

١- كائنات هتروتروفية (غير ذاتية التغذية) Heterotrophic organisms

وقد تسمي عضوية التغذية Organotrophic organisms حيث تحصل علي احتياجاتها من الكربون والطاقة من مصادر عضوية ، وتمثل هذه المجموعة أغلب الميكروبات التي تعيش في التربة وتقوم بعديد من التفاعلات الهامة في تحلل المادة أو المواد العضوية المعقدة وتحولها إلى صور بسيطة جاهزة للنباتات مثل تحلل البروتينات Proteolysis والنشدرة Ammonification ومعدنة الفوسفور العضوي ، كما أنها تلعب الدور الرئيسي في تكوين الدبال Humus ، كما تنتج هذه الميكروبات أثناء تحللها للمواد العضوية أحماضا تساعد علي إذابة كثير من العناصر المعدنية غير الذائبة في التربة وتجعلها قابلة للإستفادة بواسطة النباتات . كما أن هذه المجموعة تحتوي علي أهم أنواع البكتريا المثبتة للنيتروجين الجوي .

٢- كائنات أوتوتروفية (ذاتية التغذية) Autotrophic organisms

وقد تسمي معدنية التغذية Lithotrophic organisms وهي تحصل علي الكربون اللازم لها من CO_2 ولا تحتاج إلى مواد عضوية لنموها وتحصل علي الطاقة من أكسدة مواد كيميائية قابلة للأكسدة أو من التمثيل (البناء) الضوئي وعلي هذا فإن هذه المجموعة تنقسم إلى قسمين حسب مصدر الطاقة كما يلي :

٢-١- كائنات كيموليثوتروفية Chemolithotrophic organisms

وهي البكتريا التي تحصل علي الطاقة من أكسدة مواد كيميائية غير عضوية وهذه الميكروبا لها أهمية في التربة فمنها:

a) Organisms oxidizing ammonia or nitrite
Family: Nitrobacteraceae:
Gen. 1: Nitrobacter
Gen. 2: Nitrospina
Nitrosococcus
Gen. 3: Nitrococcus
Nitrosolobus
Gen. 4: Nitrosomonas
Gen. 5: Nitrosospira

b) Organisms metabolizing sulfur
Family:
Gen. 1: Thiobacillus
Gen. 2: Sulfolobus
Gen. 3: Thiobacterium
Gen. 4: Macromonas
Gen. 5: Thiovulum
Gen. 6: Thiospira

c) Organisms depositing iron or manganese oxides
Family: Siderocapsaceae
Gen. 1: Siderocapsa
Gen. 2: Naumanniella
Gen. 4: Ochrobium
Gen. 5: Siderococcus

٢-٢- كائنات فوتوتروفية Phototrophic organisms

وهي البكتريا التي تحصل علي الطاقة اللازمة لها من خلال عملية البناء الضوئي ، Photosynthesis وأهميتها محدودة في الطبقة السطحية من التربة وفي وجود رطوبة عالية .

وطبقا لأخر طبعة من تقسيم البكتريات Bergey's Manual of Systematic Bacteriology والتي صدرت ١٩٩٤م فقد وضعت البكتريا

الممثلة للضوء والذي يضم البكتريا ذات الصفات غير العادية Bacteria with unusual properties حيث وضعت في قسمين هما:

٢-٢-١: البكتريا الممثلة للضوء غيرالأكسجينية

Anoxygenic Phototrophic Bacteria

هي البكتريا الممثلة للضوء التي لا تنتج أكسجيناً عند التمثيل الضوئي وهذا القسم يضم رتبة واحدة هي Order: Rhodospirillales وهذه الرتبة تنقسم بالتالي إلى مجموعتين رئيسيتين – هما :

أ- البكتريا الأرجوانية **Purple Phototrophic Bacteria**

حيث تضم عائلتين هما Fam: Rhodospirillaceae وهي عائلة البكتريا الأرجوانية غير الكبريتية ، وتتميز أفراد هذه العائلة بأنها تستطيع إستخدام المواد العضوية أيضا كمصادر للكربون والطاقة في غياب الضوء . أما العائلة الثانية فهي Fam: Chromatiaceae وهي عائلة البكتريا الأرجوانية الكبريتية ، وهي تستخدم مركبات الكبريت المختزنة مثل H_2S أو الثيوكبريتات أو الكبريت كمستقبل للإلكترونات في عملية البناء الضوئي. وفي حالة إستخدامها للـ H_2S يترسب الكبريت الناتج عن الأكسدة داخل الخلايا حيث يتم أكسدته إلى كبريتات فى مرحلة ثانية .

ب- البكتريا الفوتوتروفية الخضراء **Green Phototrophic Bacteria**

وهي تضم عائلتين أيضا هماً Fam:Chlorobiaceae وهي البكتريات الخضراء الكبريتية وتستخدم H_2S كمستقبل للإلكترونات في عملية التمثيل الضوئي حيث يتم ترسيب الكبريت الناتج عن الأكسدة خارج الخلايا قبل أن يتأكسد إلى كبريتات SO_4 في مرحلة ثانية . أما العائلة الثانية فهي Fam:Chloroflexaceae وهي عائلة البكتريا الخضراء غير الكبريتية ،

وهــي تضــم كائنــات تســتطيع إســتخدام المــواد العضــوية أي إنهــا فوتوأورجانوتروفية Photo-organotrophic

٢-٢-٢ : البكتريا الممثلة للضوء الأكسجينية Oxygenic Phototrophic Bacteria

وهذه هي التي كانت تسمي باسم الطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae or cyanobacteria.

البكتيريا المحبة للملوحة :

ولقــد إهــتم العلمــاء بدراســة البكتريــا المحبــة للملوحــة Salt-loving Halophilic bacteria وكــذا المقاومــة أو المتحملــة للملوحة Halotolerant bacteria ودور هذه البكتريــا فــي الأراضــي . وتشمل البكتريا المحبة للملوحة مجموعة من البكتريا لها القدرة علي النمو في (أو تحتاج إلى) تركيزات عالية من المحاليل الملحية ، وعدم توفر تلك التركيزات العالية من الأملاح يؤدي إلى تحلل الجــدر الخارجيــة لهــذه الميكروبات ثم إنسياب محتوياتها الداخلية وموتها . وتشمل تلك المجموعة من البكتريا الفئات التالية:

١) بكتريا محبة للملوحة المرتفعة Extreme halophiles:وهذه لا تنمــو إلا في محاليل ملحية ذات تركيز ٣,٥ مولر أو اكثر من ص كل (أي أكثر من ٢٠ % NaCl) .

٢) بكتريا محبة للملوحة المتوسطة Moderate halophiles: وهذه تنمو في محاليل ملحية ذات تركيز من ص كل يتراوح بين (٠,٥-٣,٥) مولر أي حوالي(٣-٢٠ % NaCl).

٣) بكتريا متحملة للملوحة Halotolerant bacteria: وهذه لا تحتاج في نموها إلى ملح ، ولكنها تستطيع أن تنمو في محاليل ملحية تحتوي على تركيز من ص كل حتى ١٠ % أو أكثر .

وبالإضافة إلى البكتريا المحبة للملوحة ، فإنه يوجد بعض الميكروبات الأخرى مثل بعض أفراد من بكتريا الكبريت والخمائر والفطريات والطحالب الخضراء التي تعيش في محاليل شديدة الملوحة.

وتتميز البكتريا التابعة لجنس *Halobacterium* بأنها ليست لها اجدار الخلوي الطبيعي المميز للبكتريا العادية ، ولكنه مكون من وحدات من البروتين. وهذه الوحدات البروتينية تظل مرتبطة مع بعضها طالما بقيت الخلايا في محاليل مرتفعة الاسموزية ، ولكنها تتفكك إذا وضعت الخلايا في محاليل اقل من ١٠% NaCl مما يؤدي إلى تحلل الحلايا نفسها . أما جنس *Halococcus* فإن جدره الخلوية تتكون من معقد من السكريات غير المتجانسة Heteropolysaccharides ، وهو يبقى متجانسا حتى في التركيزات المنخفضة من الملح . كما تتميز البكتريا المحبة للملوحة بان لها نظم خاصة لإنتاج الطاقة لا توجد في الكائنات الأخرى . وهذا موضوع يناقش في مجال فسيولوجيا الميكروبات Microbial physiology .

وتنمو البكتريا المحبة للملوحة ببطء نسبي عن الخلايا البكترية العادية، بمتوسط عمر جيل قدره ٧-١٥ ساعة وحرارتها المثلى حوالي ٣٧ م أو أعلي. ومن الناحية الإيكولوجية فإن البكتريا المحبة للملوحة توجد في المياه المالحة كالبحيرات المالحة الكبرى في أمريكا والبحر الميت بالأردن ، وعلي شواطئ البحر حيث يحدث تركيز لمياه البحر بالتجفيف . وكذلك توجد في الأراضي الملحية Saline soil ، وأيضا في الأراضي شديدة

الملوحة والقلوية كما توجد في الأغذية المملحة كاللحوم والأسماك حيث تسبب فسادها وتلون أسطحها .

كما تضم التربة بكتريا كثيرة تتبع للبكتريا الزاحفة المكونة للأجسام الثمرية (البكتيريا الزاحفة) Gliding fruiting bacteria مثل أفراد رتبة Myxobacterales وكذلك رتبة order: Cytophagales. كما تحتوي التربة علي أنواع من البكتريا المغلفة Sheathed bacteria وهي تتميز بأن سلاسل البكتريا محاطة بأغلفة من مواد عضوية أو من أكاسيد الحديد أو المنجنيز ، ومن أجناس هذه المجموعة Sphaerotilus وتوجد في التربة أيضا أمثلة كثيرة للبكتريا التابعة لـ: Budding and / or appendaged bacteria ومنها أجناس Gallionella ؛ Caulobacter .. الخ .

الأكتينوميستات Actinomycetes

بالرغم من فصل هذه المجموعة في قسم مستقل عند دراستها إلا أن ذلك ليس له أساس في علم التقسيم Systematic حيث انها تتبع البكتريا . وطبقا لتقسيم Bergey (١٩٩٤م) فقد وضعت في المجلد الرابع الذي يضم البكتريات الموجبة لجرام الخيطية ذات الشكل المعقد G^{+} filamentous bacteria of complex morphology. وهذه المجموعة الهامة من البروكاريوتات تنقسم إلى أربعة مجموعات رئيسية كما يلي :

١. البكتيريا الخيطية التي تنقسم في اكثر من مستوي واحد.
Filamentous bacteria that divide in more than one plane

٢. البكتيريا الخيطية التي تكون حافظة جرثومية حقيقية
Filamentous bacteria that form true sporangium

٣. الاستربتوميسيس والأجناس الشبيهة.

Streptomyces and similar genera

٤. البكتيريا الخيطية الأخرى غير المستقرة تقسيميا.

Additional filamentous bacteria having uncertain taxonomy

هذه المجموعات الأربعة تختلف كثيرا في مدي وجودها وإنتشارها في الأراضي الزراعية ، وبالتالي دورها في العمليات الحيوية بالتربة ، كما سيتضح فيما يلي :

أولا : المجوعة الأولى :

وهي تضم البكتريا الخيطية التي تتكاثر بانقسام الخيط طوليا وعرضيا مكونة كتلة من الخلايا كروية أو مكعبة الشكل وهذه تشمل ثلاثة أجناس هي :

١) Dermatophilus: وليس له دور في التربة حيث أن أفراده عباره عن بكتريا ممرضة تسبب أمراضا جلدية للإنسان والحيوان.

٢) Geodermatophilus : وهو تضم بكتريا تعيش في التربة الزراعية.

٣) Frankia : وهو من أهم الأجناس من الناحية الزراعية حيث أن أفراده تعتبر مثبتات تكافلية للنيتروجين الجوي مع نباتات الأشجار.

ثانيا : المجموعة الثانية :

وهي التي تكون حافظة جرثومية sporangium حقيقية والحوافظ الجرثومية محمولة علي هيفات هوائية ، والأولى تحمل بداخلها الجراثيم الإسبورانجية Sporangiospores . والأنواع التابعة لهذه المجموعة تعيش في التربة وخصوصا الأنواع التابعة لجنس *Actinoplanes* ، ومنها ما يكون مضادات حيوية من طراز polypeptide antibiotics ومنها ما يكون مضادات حيوية من طراز polycyclic antibiotics.

ثالثا : المجموعة الثالثة :

وتضم جنس *Streptomyces* والأجناس الشبيهة ، وهي أهم المجموعات الأربعة و أكثرها إنتشاراً في الطبيعة . وأهم أجناس هذه المجموعة هو جنس *Streptomyces* وأنواعه واسعة الانتشار في التربة وكثير من أنواعه تستطيع تحليل المواد المعقدة كما أن لها دوراً هاماً في عمليات المعدنة Mineralisation وكذلك عمليات حفظ التوازن الميكروبي في التربة من خلال القدرة العالية لعديد من أنواعه علي إفراز مضادات الحيوية .

رابعا : المجموعة الرابعة :

وهي تضم سبعة أجناس لم يستقر وضعها التقسيمي بعد . وكثير من الأنواع التابعة لهذه الأجناس تعيش في التربة وتضم أنواعا محبة للحرارة ولها دور في تحلل أكوام السماد العضوي ، كما تضم أنواعا محبة للاسموزية . هذا وقد تم فصل عدة أجناس كانت طبقا لتقسيم Bergey(١٩٧٤م) تتبع الاكتينومايستات ولكنها فصلت عنها ووضعت مع البكتريا العصوية الموجبة لجرام العادية Ordinary Gram- positive bacteria في المجلد الثاني (vol. 2) من Bergey`s Manual (١٩٨٤م) وقد تم فصل هذه الجناس أيضاً في الطبعة التاسعة عام (١٩٩٤) - وهذه الأجناس هي: ***Actinomyces , Nocardia , Mycobacterium , Pseudonocardia***

وأعداد الأكتينومايستات في التربة كبيرة ، وعادة ما تعد بطريقة الأطباق بإستخدام بيئة غذائية خاصة ، ولكن يجب أن نلاحظ أن المستعمرات المتكونة يمكن أن تنتج عن كونيدة أو جزء من الميسيليوم ولذلك فان وجود ظروف في التربة تساعد علي تكوين الكونيدات يمكن أن تعطي أعداداً من

الأكتينومايستات عالية بالرغم من أن نشاطها في التربة تحت هذه الظروف قد يكون محدودا . وعلي ذلك فإن وجودها بأعداد كبيرة قد لايمثل مدي نشاطها الحقيقي في التربة . وقد تعطي طريقة الأطباق أعدادا تتراوح بين ١٠° - ١٠^٨ /١ جم ، ونسبتها للعدد الكلي تتراوح من ١٠ - ٧٠% ، وعادة ما تكون الاكتينومايستات أقل عددا في المناطق الرطبة عن المناطق الجافة ، وأعدادها تكون أكبر في مناطق الحشائش عن الأراضي المزروعة بالمحاصيل ، وهي اكثر انتشارا في المناطق الحارة عن الباردة . ويناسبها الأراضي المعتدلة التأثير ذات الـ pH من٦,٥-٨ وتقل أعدادها بدرجة كبيرة في الأراضي الحامضية ذات الـ pH أقل من 0.5.

ومن المعروف أن الاكتينومايستات تكون أبطأ في نموها من البكتريا. وهذه الظاهرة لها أهميتها ، ففي حالة توافر ظروف ملائمة للنشاط الميكروبي في التربة مثل اضافة مواد عضوية بها مواد سهلة التحلل يظهر التنافس بين ميكروبات التربة بوضوح ونظرا لبطأ نمو هذه المجموعة فان قدرتها علي التنافس تكون محدودة ، لذلك تقل في أعدادها في الفترات الأولى للتحلل . ومع نقص المواد السهلة التحلل من المادة العضوية المضافة تبدأ أعدادها في الزيادة وتصبح هي السائدة حيث تستفيد من قدرتها علي تحليل المواد المعقدة ، وعموما فان الاكتينومايستات تستطيع استخدام مواد عديدة كمصادر للكربون والطاقة ومنها مركبات بسيطة ومركبات شديدة التعقيد . ويعتبر تحليل الكيتين Chitin صفة مميزة لمجموعة الاكتينومايستات حيث أن الغالبية من محللاته تتبع جنس *Streptomyces* . كما تستطيع الاكتينومايستات تحليل مواد كثيرة غريبة التركيب مثل pesticides، phenols ، steroids ، paraffins.

الفطريات Fungi

مع أن البكتريا اكثر الكائنات الحية عددا في التربة الزراعية ، إلا أنه نظراً لصغر حجم الخلية التي نادراً ما تزيد عن ٥ ميكرون في الطول ، وكبر حجم هيفات الفطريات ، فانه في التربة جيدة التهوية المنزرعة قد تمثل الفطريات جزءاً أكبر من الوزن الكلي للبروتوبلازم الميكروبي (راجع جدول رقم٢) وهذا يظهر بوضوح في تربة الغابات مثلا عندما يكون ميسيليوم الفطريات شبكة تتخلل التربة والمواد المتحللة ، وعموماً فان الفطريات تسود الأراضي الزراعية الحامضية التأثير.

ويوجد ميسيليوم الفطريات في التربة علي شكل شبكة من الخيوط تتخلل حبيبات التربة وتربط الحبيبات مع بعضها ويظهر هذا بوضوح عند إستخدام تكنيك الشريحة المطمورة Buried slide technique ولقد أوضحت الدراسات أن التربة الخصبة قد تحتوي علي ما بين ١٠-١٠٠ متر من خيوط الفطر لكل ١جم مما يفيد أن (٢٠٠-٢٠٠٠) كيلو جرام كتلة خلوية Biomass توجد بالفدان الواحد (الفدان =٤٢٠٠م^{٢}) (راجع جدول رقم ٢) .

وليست هناك طريقة واحدة لدراسة فطريات التربة يمكن أن تعطي صورة دقيقة لمدي انتشارها و نشاطها ، و من بين الطرق المستخدمة لتقدير فطريات التربة ، طريقة العد بالأطباق Plate counting method بإستخدام بيئات خاصة . ولو أن من عيوب طريقة العد لفطريات التربة بالأطباق أن المستعمرات Colonies التي تظهر علي الأطباق قد تنتج من جرثومة ساكنة أو جزء من الميسيليوم ، وعلي ذلك فان وجود أنواع من الفطريات السريعة في تكوين الجراثيم في التربة ينتج عنه أعداداً كبيرة عند العد بالأطباق ، بينما في تربة أخرى قد يكون النشاط الفطري فيها عاليا جداً . ولكن الأنواع

الموجودة لا تكون جراثيما فهذه تعطي أعدادا أقل كما يلاحظ أن أطباق العد تظهر فيها بكثرة الفطريات ذات القدرة علي تكوين الجراثيم مثل *Penicillium*، *Aspergillus* ، بينما لا يظهر كثير من الفطريات غير القادرة علي تكوين جراثيم بكثرة في الأطباق وعموما فان أعداد الفطريات المقدرة بطريقة الأطباق تتراوح بين ٢٠,٠٠٠-١,٠٠٠,٠٠٠/١ جم .

ويلاحظ أن نشاط وانتشار الفطريات في التربة يتأثر بعوامل كثيرة – فالفطريات كائنات هتروتروفية Heterotrophic microorganisms ، لذلك فان أعدادها يتحكم فيها لحد كبير وجود مادة عضوية قابلة للأكسدة كمصدر للطاقة لهذه الميكروبات . لذلك فعاده ما توجد علاقة طردية بين أعدادها و نسبة الدبال humus في التربة . وإضافة مادة عضوية للتربة لا يؤثر فقط في أعدادها ولكن يؤثر أيضا في الأنواع السائدة .

ومن أهم العوامل المؤثرة علي فطريات التربة درجة الحموضة (pH) ، فمن المعروف أن كثير من فطريات التربة يمكنها أن تنمو في في مدى واسع من الـ pH ولكن نظرا لأن البكتريا والأكتينومايستات تكون أقل أنتشارا في الأراضي الحامضية فان الفطريات تسود في هذه الأراضي . وهذه السيادة لا ترجع فقط الى أن الظروف الحامضية ملائمة أكثر للفطريات ولكن أيضا لعدم وجود تنافس بين الفطريات والأحياء الأخرى . وتؤثر رطوبة التربة أيضا علي مدي انتشار الفطريات حيث وجد أن إضافة المياه للأراضي الجافة تزيد من نمو الفطريات ، ومن ناحية أخرى فان الرطوبة العالية تؤثر علي نمو الفطريات لما لها من تأثير عكسي علي التهوية خصوصا وأن الفطريات في الغالب الأعم تكون هوائية ، فالفطريات تكون قليلة في الأراضي الغدقة سيئة التهوية.

ولقد ثبت أن أغلب الفطريات تكون محبه لدرجة الحرارة المتوسطة أي إنها Mesophilic microorganisms ، ولو أن هناك بعض السلالات المحبة للحرارة المرتفعة Tthermophiles تسود في أكوام السماد المتحللة مع ارتفاع درجة الحرارة والتي تلعب دوراً هاماً في نضج السماد .

وتسود الفطريات من صفوف الـ Ascomycetae، Phycomycetae ، Deuteromycetae في الأراضي . وبينما تكون الفطريات الناقصة أوسع فطريات التربة انتشاراً نجد أن الفطريات الطحلبية (زيجية و بيضيه) اقلها انتشاراً وإن كان هناك أنواعا من الأخيرة تتبع رتبة Mucorales واسعة الانتشار في الأراضي . ومن أجناس الفطريات واسعة الانتشار في مختلف الأراضي نجد ما يلي *Botrytis*، *Alternaria*، *Fusarium*، *Aspergillus* ، *Rhizopus*، *ucor* . *Cladosporium*

أما بالنسبة لدور الفطريات في الأراضي فمن المعروف أن الفطريات كائنات هتروتروفية هوائية وتستخدم عديد من المواد العضوية كمصدر للكربون والطاقة مثل السكريات الأحادية والثنائية المعقدة والأحماض العضوية والنشا والبكتين والسليلوز والدهون واللجنين . وبعض هذه المواد لا تستطيع البكتريا تحليلها ، كما تستخدم كثيرا من المواد النيتروجينية البسيطة والمعقدة كمصادر للنيتروجين . وعلي ذلك ، فالفطريات تلعب دوراً هاماً في تحليل السليلوز والهيمسليلوز والبكتين في الأراضي ، كما يمكن أن تلعب دوراً في معدنة النيتروجين العضوي ، ولها دوراً أساسيا في تكوين الدبال في الأراضي . كما أن فطريات التربة المرضية Soil borne pathogenic fungi لها أهمية خاصة من ناحية أمراض النبات وكثير من هذه الفطريات

تعيش في التربة مترممة وعندما تجد الظروف الملائمة تغزو العائل وتسبب المرض .

فطريات الميكورهيزا Mycorrhizae

بدأ التعرف علي الجذور الفطرية المسماة Mycorrhizae (fungous roots) (sing.mycorrhiza) في بداية الستينات من القرن العشرين ، حيث وجدت جراثيمها مع نيماتودا مفصولة من تربة زراعية ، ومن وقتها بدأ الاهتمام بها . وهي تمثل حالة تعاون فريدة بين الفطريات وجذور بعض النباتات الراقية ، حيث تقوم هذه الفطريات بعمل الشعيرات الجذرية علي جذور نبات العائل حيث تساعد النبات علي إمتصاص الماء والغذاء والأملاح المعدنية مثل الفوسفور والكالسيوم والبوتاسيوم والنحاس والحديد . وبذلك فان الجذور الفطرية تلعب دوراً هاماً في حياة بعض النباتات خاصة أشجار الغابات التي تعتمد علي هذه الفطريات في التغذية Mycotrophy حيث لوحظ ضعف تلك الأشجار النامية عند غياب هذه الفطريات . كما لوحظ ضعف شتلات أشجار الموالح النامية في أراضي المشاتل المعاملة بالمبيدات الفطرية، وهذا يشجع البعض علي تلقيح التربة بالجذور الفطرية كما يحدث عند تلقيح ارض الموالح بفطريات من جنس *Endogone*.

ولقد تبين أن فطريات الميكورهيزا فطريات محدودة الموطن إذ توجد فقط حول جذور عوائلها وتعيش معها في حالة تعاون ، وتأخذ الفطريات إحتياجاتها الغذائية المعقدة من الأحماض الأمينية والفيتامينات من النبات العائل . وبسبب تلك الاحتياجات الغذائية المعقدة فانه لم تنجح زراعة بعضها في بيئات صناعية حتى الآن حيث إنها تعتبر Obligate symbiont.

ولقد لوحظ أن فطريات الميكورهيزا تكثر حول جذور النباتات في الأراضي الفقيرة في الفوسفور والنيتروجين ، كما إنها تكثر عندما تحتوي جذور العائل علي نسبة عالية من الكربوهيدرات الميسرة بزيادة نشاطه في التمثيل الضوئي . وهذا يوضح أن النبات العائل يمد الفطر بالكربوايدرات اللازمة بتمثيله وذلك بالإضافة إلى مستلزماته الغذائية الأخرى من الأحماض الأمينية والفيتامينات . وتزيد فطريات الميكورهيزا من صلاحية الفوسفور للنبات بما تفرزه من إنزيمات الفوسفاتيز أو بتشجيعها لجذور العائل لإفراز الأحماض ، ك أ ٢ التي تزيد من ذوبان الفوسفات ، وكذلك بما تفرزه للنبات العائل من مواد مشجعة للنمو Growth promoting substances .

وتحدث عدوي جذور البادرات من الأشجار بالهيفات ، من النباتات المجاورة أو الجراثيم الموجودة بالتربة أو بتلقيح التربة او بزراعة شتلات سبق تلقيح أرض مشتلها بالفطر المطلوب - علما بأنه يوجد درجة من التخصص بين الفطر والنبات العائل .

ومن الطرق الشائعة في تلقيح التربة بالميكورهيزا ، تلقيح أرض المشاتل المهيأة لزراعة العائل بتربة بها الفطريات المطلوبة للعائل بمعدل ١٠% من حجم تربة المشتل ، وتخلط بالطبقة السطحية لعمق ١٠سم وذلك قبل زراعة بذور العائل . بعد نمو الشتلات تنقل بمجموعها الجذري وما يحيط به من تربة إلى المكان المستديم ، وبذلك يتهيأ وسطا مناسبا لنمو فطريات الميكورهيزا وفى مثل هذه الحالات فانه يفضل معاملة تربة المشتل بمبيدات الأفات المناسبة للتخلص من الكائنات الضارة وتجنب نقل تلك الأفات الى الحقل المستديم . ويمكن مشاهدة الميكورهيزا عند اخراج نباتات العائل بصلاياها من أرض المشتل ، فيلاحظ أن الجذور النامية حول الصلايا تكون محاطة بطبقة قطنية لونها أصفر يتراوح من الفاتح إلى الغامق حسب نوع الميكورهيزا الموجودة.

وتبدأ الإصابة عندما يكون عمر النبات عدة أسابيع عندما تتفتح أوراقه الأولى ويزداد نشاطه التمثيلي . وتمتد هيفات الفطر من جذور العائل فيما يشبه الشعيرات الجذرية ، كما تمتد هيفات الفطر الي داخل الجذور نفسها ، وتمتاز فطريات الميكورهيز عن الفطريات الأخرى النافعة والضارة التي تصيب النباتات ، في أن جزءا من منيسيليوم الميكورهيزا يبقى نشطا بالتربة بعد العدوى وفي حالة المعيشة التعاونية لفطريات الميكورهيزا فانه يمكن تمييز جزئين مختلفين فسيولوجيا من الفطر – فالجزء الممتد خارج جذور العائل يقوم بعمل الشعيرات الجذرية من حيث امتصاص الماء والمواد المعدنية ، بينما يقوم الجزء من الفطر – الممتد داخل جذر العائل بتبادل المواد الغذائية .

تأثير الميكورهيزا علي جذور العائل:

تسبب المعيشة التعاونية بين الفطر وجذور النبات تغيرات ميكروسكوبية و سورفولوجية وتشريحية في جذور العائل، وتكون تلك التغيرات أوضح ما يمكن في حالة الـ Ectotrophic mycorrhizae حيث يتكون طبقات جديدة. أما في حالة الميكورهيزا الداخلية Endotrophic mycorrhizae فقد تسبب بالجذور زيادة طفيفة في سمك طبقة القشرة Cortex وزيادة في تفرع الشعيرات الجذرية الدقيقة مع تغير طفيف في اللون إلى اصفر مخضر لإفراز تلك الفطريات لصبغات خاصة. والجراثيم التي يكونها الفطر ذات حجم كبير نسبيا، في حجم رأس الدبوس، يمكن فصلها من التربة بغرابيل ذات سعة ثقوب مناسبة ويمكن أن تحتفظ بحيويتها لمدة شهر علي درجة ٤–٥ م، وتتميز هيفات الفطر بالصبغ بأزرق المثيلين، أما الخلايا الخاصة بجذر العائل المصاب فتظهر بلون اصفر مخضر عن

خلايا الجذر غير المصاب كما في حالة الذرة Corn، نتيجة الصبغات التي يفرزها الفطر.

تقسيم فطريات الميكورهيزا Taxonomy of Mycorrhizal Fungi

أغلب فطريات الميكورهيزا تتبع صفف Basidiomycetae المنتجة لعيش الغراب Mushrooms أو الكرات الناقحة Puffballs ، ومنها ما يتبع صف Ascomycetae ومنها الترافل Truffles ، أو صف Zygomycetae، وهذه الفطريات جميعها تتكاثر بالجراثيم الجنسية واللاجنسية . كما أن هناك البعض الذي يتبع الفطريات الناقصة Deuteromycetae. وتقسم فطريات الميكورهيزا إلى مجموعتين أساسيتين وذلك من حيث طبيعة المعيشة التعاونية مع العائل وكيفية التغذية والخواص الفسيولوجية كما يلي :

١. فطريات تعيش بين الخلايا:

وهذه تسمي Ectotrophic mycorrhizae أو Sheathing mycorrhizae أي Ectophytes وهذه المجموعة من فطريات الميكورهيزا تكون غلاف mantle حول جذور العائل بطبقة سمكها٢٠-٤٠ ميكرون كما تمتد الهيفات وتنمو خلال المسافات التي بين الخلايا في منطقة القشرة أي تكون intercellular growth . وتوجد هذه المجموعة من الفطريات في جذور كثير من الأشجار بالغابات ومنها أنواعا اقتصادية كشجر الصنوبر، ومن أجناس الميكورهيزا التي تتبع هذه المجموعة: *Boletus, Crtinarius, Suillus, Leccinum, Amanita, Tricholoma, Laccaria, Lactarius,* وهذه تتبع الـ Hymenomycetes من صف Basidiomycetae . ولقد ثبت أن الفطريات البازيدية من مجموعة Gasteromycetes تضم الأمثلة التالية أيضا *Rhizopogon, Pisolithus, Scleroderma* ولقد قدر أن أكثر من ٢١٠٠

نوعا من هذه الفطريات يمكنها معايشة أشجار الغابات في صورة جذور فطرية خارجية Ectomycorrhizae كما وجد في مناطق شمال أمريكا . وثبت أن هناك ثلاثة رتب فطرية تتبع الأسكيات (Ascomycetae) لها خاصية الجذر فطري الخارجي Ectomycorrhiza وهي رتب Eurotiales (*Cenococcum*)، Tuberales(truffles) والـ Pezizales وأيضا جنس *Elaphomyces* وهو عبارة عن hypogean plectomycetes .

٢. فطريات تعيش داخل الخلايا :

وهذه تسمى Endotrophic mycorrhizae أو Endophytes وهي عبارة عن Vesicular Arbascular Mycorrhizae (VAM). وهذه الفطريات تخترق جذر العائل وتدخل إلى داخل الخلايا وتتكاثر أي إنها تكون Intracellular growth مع وجود بعضها خارج الجذر ست في التربة . وهذه المعيشة توجد مع جذور النباتات التابعة لعائلات Orchidaceae و Rosaceae. كما توجد في أشجار الفواكه والموالح وشجر التين وكثير من النجيليات والبقوليات والسر نسيات .

واهم ما يميز فطريات الـ VAM في جذور العائل هو وجود التفرع الشجيري الشكل Arbascules والأوعية Vesicles ومن هنا جاء الأسم Vesicular Arbascular Mycorrhizae. وقد تكون الأوعية بيضاوية الشكل وأحيانا تكون مستديرة او ذات فصوص ، وتوجد بين خلايا القشرة أو بداخلها ، وهي متصلة بهيفات الفطر ، وتعمل الأوعية كأعضاء تخزين ، وفي جذور الخلايا المسنه تتحول إلى جراثيم ساكنة Resting spores تخرج إلى التربة عند تحلل الجذور . ويقوم التفرع الشجيري بعملية تبادل المواد الغذائية بين كل من الفطر والعائل الكربوايدرات والأحماض الامينية من

النبات للفطر – والفوسفات والعناصر المعدنية من الفطر للنبات وهي توجد بالقشرة وتتكون بعد عدة أيام من غزو الفطر لجدار العائل ، وتتحلل بعد أسبوعين أو ثلاثة ليتكون بدلا منها . وتعمل هيفات الفطر المتصلة بجذر النبات العائل والممتدة بالتربة بعيدا عن الجذور ، كشبكة إضافية من الشعيرات الجذرية تنقل العناصر الغذائية من التربة إلى التفرعات الشجيرية للفطر داخل قشرة جذر العائل ، ومنها إلى أجزاء النبات المختلفة .

والأنواع المتجرثمة التي لها القدرة علي تكوين VAM تقع تحت عائلة Endogonaceae من رتبة Mucorales من *Class :Zygomycetae* وأهم أجناسها: *Endogone, Gigaspora, Sclerocystis, Glomus, Acaulospora*

Characteristics of genera in Endogonaceae (order: Endogonales)

Endogone: zygospores in sporocarps

Gigaspora: zygospores borne singly in the soil

Acaulospora: zygospores borne singly in soil

Glomus: Chlamydospores in sporocarps

Sclerocystis: Chlamydospores in sporocarps

ويمكن التمييز بين الأجناس بواسطة الخصائص التالية :

1) Sporocarp: presence, form, dimensions, colour of surface, peridium.
2) Spores: shape, dimensions, surface, ornamentation, wall(s), (Number, colour, thickness).
3) Sporogenous hypha (e): Number, form, colour, thickness.

ولقد إتضح أن فطريات الـــ VAM واسعة الانتشار إذا ما قورنـــت بفطريات الـــ Ectomycorrhizae ، فهي توجد في أراضى تحـــت ظـــروف مناخية متعددة من الاستوائية إلى المعتدلة إلى المناطق القطبية ، وإن كانـــت تتأثر بنوع التربة والنبات القائم والظروف البيئية. وهذه الفطريـــات تعـــيش بالإشتراك مع جذر النبات ، ولم يمكن زراعتها في غياب جذر النبات العائل، كما لم يمكن حتى الآن عزلها علي أطباق الآجار بالطرق الميكروبيولوجيـــة المعتادة . وهي تلعب دورا هاما في تيسير الفوسفات وتتحول إلـــى صـــورة صالحة لإمتصاص النبات علاوة علي أن درجة الحرارة المرتفعة نسبيا تزيد من نشاط الفطريات بهذه الأراضي عن أراضى المناطق المعتدلة الحرارة أو الباردة .

وعلاوة علي أن فطريات الـــ VAM تزيد من إمتصـــاص النبـــات للفوسفات ، فإنها تزيد من إمتصاصه للزنك كما لوحظ فـــي نباتـــات القمـــح والذرة والبطاطس والخوخ في أراضى فقيرة في عنصر الزنك . كذلك فـــان فطريات الـــ VAMتزيد من امتصاص النبات لبعض العناصر الأخرى مثل البوتاسيوم والنحاس والكبريت وبعض العناصر الثقيلة Heavy metals

إضافة إلى ما سبق فان فطريات الـــ VAM تتعايش مع جذور معظـــم نباتات مغطاة البذور Angiospermae خاصة البقوليات والنجيليات ، كما توجـــد في جذور بعض معراة البذور Gymnospermae والسرخسيات والحزازيـــات ، ولا تخلو منها إلا جذور بعض نباتات قليلة تتبع عائلات Pinaceae. Fegaceae, Betulaceae التي تتعايش مع فطريات الـــ Ectomycorrhizae.

ومن المهم التوسع في دراسة فطريات الميكروهيزا تحت الظـــروف المحلية لكل منطقة خاصة ما يتعلق منها بالأنواع التي تعيش داخل الخلايـــا

(Endophytes) وهي الأنواع التي تصيب غالبا المحاصيل البستانية والحقلية كما سبق الإشارة . وهي تكون جراثيم كلاميدية كبيرة مميزة توجد داخل الأنسجة ، ويمكن صبغ تلك الجراثيم بصبغة ازرق الميثلين ، ولو امكن تنمية تلك الأنواع من الفطريات في جذور النباتات البقولية المثبتة للنيتروجين فان الفائدة الناتجة ستكون مزدوجة من حيث تثبيت النيتروجين وامداد النبات بما يلزمه من الفوسفور وذلك بواسطة الميكروبات .

الخمائر Yeast

هي مجموعة من الفطريات وحيدة الخلية ، ويوجد بها أنواع متعددة من طرز التكاثر، وتصنف الخمائر فى ٣٩ جنسا علي النحو التالي:

أولا: Class: Ascomycetae يحوي ٢٢ جنسا من الخميرة .

ثانيا: Class:Basidiomycetae يحوي ٥ أجناس من الخميرة.

ثالثا : Class: Deuteromycetae يحوي ١٢ جنسا من الخميرة.

ولقد ثبت تواجد الخمائر في معظم الأراضي ، فهي متواجدة في أراضى المراعي والغابات والحقول المنزرعة وحول جذور بعض النباتات ، غير أن درجة إنتشارها ليست بالدرجة التي توجد عليها البكتريا ، وهي توجد بأعداد تتراوح ما بين ٢٠٠ إلى ١٠٠,٠٠٠ حسب الظروف البيئية المحيطة بها.

ومن أكثر الأجناس التي عزلت من الأراضي أنواع غير متجرثمة مثل أفراد الأجناس التالية: *Candida, Cryptococcus, Rhodotorula, Torulopsis* . ومن الأنواع المكونة لجراثيم أسكية عزلت من التربة أفرادا من الأجناس التالية : *Sccharomyces, Debaryomyces, Hansenula, Lipomyces, Pichia*

ومما يذكر أن خميرة *Lipomyces Starkeyi* تتحمل الحموضة ويكثر وجودها في الأراضي الإستوائية ، وهي نفس الظروف التي تتواجد تحتها البكتريا المثبتة للنيتروجين الجوي من أجناس *Beijerinckia, Derxia* . ويعتقد أن الخميرة تعيش مع هذه البكتريا معيشة تعاونية حيث تفرز الخميرة مواداً مشجعة لنمو البكتريا مما يزيد من كفاءتها في تثبيت النيتروجين الجوي.

تقسيم الخمائر : يمكن تقسيم الخمائر التسعة والثلاثون جنسا من الخمائر علي النحو التالي :

I. Ascospore – forming yeast :

Kingdom: Plantae

Class: Ascomycetae **(22)** *

Order: Endomycetales

Family1: Saccharomycetaceae

Sub family1: Schizosaccharomycoideae

2: Lipomycetoideae

3: Nadsonioideae

4: Saccharomycoideae

Genus1:	**Schizosaccharomyces**	**(4) +**
2:	**Lipomyces**	**(2)**
3:	**Nadsonia**	**(2)**
	Hanseniaspora	**(3)**
	Saccharomycodes	**(1)**
	Wickerhamia	**(1)**
4:	**Saccharomyces**	**(41)**
	Pichia	**(35)**

*indicates number of genera ;+ indicates number of species

Hansenula (25)
Kluvveromyces (18)
Debaryomyces (18)
Scharonniomyces (4)
Dekkera (2)
Citeromyces (1)
Lodderomyces (1)
Pachysolen (1)
Saccharomycopsis (1)
Wingea (1)

Family2: Spermophthoraceae

Genus1: Metschnikowia (5)+
2: Nematospora (1)
3: Coccidiascus (1)

Family3: Endomycetaceae

Genus1: Endomycopsis (10)+

II. Ballistosporogenous yeasts (3)*

Class: Basidiomycetae (5)*

Family: Sporobolomycetaceae

Genus1: Sporidiobolus
2: Sporobolomyces
3: Bullera
4: Rhodosporidium
5: Leucosporidium

III. Asporogenous yeast

Class: Deuteromycetae (12)*

Order: Moniliales

Family: Cryptococcaceae

Genus1: <u>Candida</u>	**(81) +**
2: <u>Torulopsis</u>	**(36)**
3:<u>Cryptococcus</u>	**(17)**
4: <u>Rhodotorula</u>	**(9)**
5: <u>Trichosporon</u>	**(8)**
6: <u>Brettonomyces</u>	**(7)**
7: <u>Kloeckera</u>	**(4)**
8: <u>Pityrosporum</u>	**(3)**
9: <u>Oosporidium</u>	**(1)**
10: <u>Schizoblastosporion</u>	**(1)**
11: <u>Sterigmatomyces</u>	**(1)**
12: <u>Trigonopsis</u>	**(1)**

ولقد وجد ان انسب البيئات لعزل الخمائر من الأراضي الزراعية ما يلي :

1) Hertz and levine's medium
2) Modified warcurp's medium
3) Czapek-Dox medium
4) Davis's yeast salt agar

حيث وجد أن هذه البيئات سهلت عزل الأنواع المختلفة من الخمائر ، وذلك لزيادة أعداد مجاميع الخميرة النامية على الأطباق وكبر حجم مستعمراتها، وأيضا للحد من ظهور الميكروبات الأخرى غير المرغوب فيها من البكتريا والفطريات ، وعلي سبيل المثال فان البيئة الأولى تحتوي على جميع المكونات الكافية لنمو الخميرة والعوامل المساعدة للنمو (في مستخلص

المولت) مع وجود مادة الـــ: Diphenyl كمثبط للفطر ، pH قدره ٤,٥ غير الملائم لنمو البكتريا أما البيئة الرابعة فتستخدم في عزل وإحصاء الخمـــائر والفطريات Moulds حيث أنها تتيح نموهما عليها معا .

الطحالب Algae

توجد الطحالب في كل أنواع الأراضي وإن كانت أعدادها أقل مـــن البكتريا والفطريات والاكتينومايستات وتتميز الطحالـــب بإحتوائهـــا علـــي الكلوروفيل ، وعلي ذلك فهي كائنات أوتوتروفية تقوم بعملية البناء الضوئي ومنها تحصل علي الطاقة اللازمة لها. وإذا نمت الطحالب في أعماق التربة بعيدا عن الضوء فإنها تبقي ساكنة لفترة محدود وإن كان هناك أنواعاً مـــن الطحالب تكون إختيارية في تغذيتها أي إنها في غياب الضوء تتغذى علـــي مصادر كربون عضوية . وعموما فان إنتشار الطحالب يكون محدوداً فـــي الطبقة السطحية من التربة في وجود رطوبة عاليـــة وتكثـــر علـــي ســـطح الأراضي الغدقة ، ويمكن تقدير أعداد الطحالب في التربة بإستخدام طريقـــة العد الإحتمالي Most Probable Number (MPN) وذلك من خـــلال بيئـــة خالية من مصدر الكربون وتحتوي علي العناصر المعدنية اللازمـــة لنمـــو الطحالب في الضوء لمدة ٤-٦ أسابيع.

ولقد أظهرت الدراسات أن أعداد الطحالب في الطبقة السطحية مـــن التربة تتراوح بين ١٠٠ - ٥٠٠,٠٠٠/جم ، ولكن طرق تقدير الطحالب فـــي التربة لها قيمة محدودة وذلك لان الأنواع الخيطية تعطي أعدادا قليلـــة عنـــد العد بينما تعطى الأنواع وحيدة الخليـــة أعـــداداً كبيـــرة . ومـــن الناحيـــة المورفولوجية فإن الطحالب التي توجد بالأراضي تكون إما وحيدة الخلية أو

ذات سلاسل قصيرة ، وهي عموما أصغر وأبسط تركيبا من الأنواع المائية .
وتحتوي الأراضي الزراعية علي مجموعات الطحالب الرئيسية التالية :

١. طحالب خضراء Chlorophyceae
٢. طحالب خضراء مزرقة Cyanophyceae(Cyanobacteri أو (Myxophceae
٣. الدياتومات Bacillariophyceae
٤. طحالب خضراء مصفرة Xanthophyceae

ولقد وجد أن الطحالب الخضراء والدياتومات تسود علي باقي أنواع الطحالب الأخرى بأراضي المناطق المعتدلة ، بينما تسود الطحالب الخضراء المزرقة في أراضى المناطق الحارة ، وتوجد الطحالب الخضراء في الأراضي غالبا علي صورة كائنات وحيدة الخلية أو خيطيه بسيطة التركيب ، وبوجه عام فان الأنواع المنتشرة في الأراضي تكون أبسط تركيبا من تلك الأنواع المنتشرة في الأوساط المائية وعموما فان الطحالب الخضراء تسود الأنواع الأخرى من الطحالب في أراضى المناطق المعتدلة وفي الأراضي الحامضية ومن أهم أجناسها الموجودة بالأراضي هى *Chlamydomonas, Scenedesmus, Ulothrix Chlorococcus, Chlorella.*

أما الدياتومات Diatoms (Bacillariophyceae) فهي توجد بالأراضي ككائنات وحيدة الخلية أو مستعمرات وتتواجد بأراضي المناطق المعتدلة التأثير (pH) أو القلوية ومن أكثر أجناسها تواجدا بالأراضي هى *Cymbella, Surirella, Navicula.* أما الطحالب الخضراء المصفرة Xanthophyceae فهي تعتبر نسبيا اقل أنواع الطحالب تواجدا بالأراضي ،

ومن أهم أجناسها التي توجد بالتربة: *Heterococcus, Heterothrix, Botrydiopsis*

وتمثل الطحالب الخضراء المزرقة (Blue greens) أكبر وأكثر المجموعات انتشاراً للبروكاريوتات الممثلة للضوء وقد ينظر إليها على أنها حلقة إتصال بين البكتريا والنباتات الخضراء . ويوجد من هذه المجموعة أكثر من ٢٠٠٠ نوع منها وحيد الخلية المجهري أو مايوجد في خيوط ، وعندما تنمو في تجمعات كبيرة Mass growth فإنها تعطي الوسط المائي النامية به مثل البحيرات لونا مميزا لامعا ، وكثيراً منها يعتبر غذاءاً للبلانكتون أو تستعمل كسماد ، ومنها ما يثبت النيتروجين الجوي بالتربة . والطحالب الخضراء المزرقة تكون أكبر حجما من البكتريا ، وهي هوائية ، وإن كانت تستطيع أن تعيش في ظروف لاهوائية ، وأغلب أنواع الطحالب يكون خيطيا ومنها المتفرع مثل *Tolypothrix, Calothrix* ومنها غير المتفرع مثل *Oscillatoria, Nostoc* وبعضها يوجد كخلايا وحيدة أو في مستعمرات ، ومن الأنواع وحيدة الخلية الأجناس: *Anacystis, Chroococcus, Gloeocapsa*. وتتكاثر الطحالب الخضراء المزرقة بعدة طرق منها التجزئة Fragmentation ، الانقسام الثنائي البسيط مثل البكتريا Binary fussion أو تكوين وحدات تكاثرية لاجنسية ومنها الاتي :

ا. الهورموجونات Hormogonia (مفردها هرموجونة Hormogonium) وهي أجزاء صغيرة من الخيط ذات نهايات مستديرة ، متحركة ، وهي توجد في الأجناس التابعة لرتبة Nostocales.

ب. أكينيتات Akinetes (مفردها أكينيتة Akinete) وهي عبارة عن جرثومة غير متحركة ، كل جرثومة تنشأ من خلية كبيرة ذات جدر سميكة تنشأ

عن بعض خلايا الهورموجونة وتكون غنية بمحتواها الغذائي وذات جدر أكثر تغلظا من الخلايا الأخرى وهي جراثيم ساكنة Resting spore مقاومة للظروف البيئية غير الملائمة . تنبت هذه الجراثيم عند تحسن الظروف وتكون خيوطا حضرية وهي توجد في الأجناس التابعة لعائلة Nostocaceae.

د. جراثيم داخلية Endospores في بعض الأجناس تتكون الجراثيم من إنقسام بروتوبلاست خلية خضرية مكونة عديد من الجراثيم الداخلية Endospores الصغيرة الحجم . وتتميز هذه الجراثيم الداخلية عن الجراثيم الساكنة .(الأكينيتات) بان جدار الجرثومة في الحالة الأولي لا يندمج مع جدار الخلية الخضرية الأم .

أما التناسل الجنسي Sexual reproduction فعلي الأرجح يكون غير معروفا في شعبة الطحالب الخضراء المزرقة إذ لم يثبت وجود أمشاج Gametes، وجراثيم متحركة Notile spores، زيجوتات Zygotes أو أية علامة علي حدوث التزاوج Conjugation المفضي إلى التناسل الجنسي ، وإن كان هناك أراء تزعم حدوث تزاوج علي غرار الاراء التي تشير لذلك في بعض البكتريا.

ويمكن القول بأن بعض الطحالب تلعب دورا هاما في خصوبة التربة إذ أن بعضها يثبت النيتروجين الجوي ، وفي كثير من البلاد يجري إستغلال الطحالب الخضراء المزرقة للعمل علي زيادة المحتوي النيتروجيني للتربة المعدة لزراعة الأرز ، حيث تلقح التربة بمثل هذه الطحالب المثبتة للنيتروجين الجوي ومن هذه الطحالب أجناس: *Nostoc , Calothrix , Anabaena*

البروتوزوا Protozoa

البروتوزوا أو الحيوانات الأولية Protozoans عبارة عن حيوانات وحيدة الخلية ، مجهرية غالبا باستثناء القليل منها ، وعادة ما يميل علماء الحيوان إلى تقسيم المملكة الحيوانية Kingdom Animalia إلى تحت مملكة Subkingdom إثنين كبيرتين هما أوليات وحيدات الخلايا Protozoa وعديدات الخلايا Metazoa . والإثنان يختلفان كثيرا في تعداد الأنواع Species في كل منها ، فيعرف من البروتوزوا ما يزيد علي ٣٠,٠٠٠ نوع وعدد أفرادها يزيد عن عدد أفراد الحيوانات الأخرى جمعاء ، بدرجة كبيرة.

وتعيش الحيوانات الأولية في أوساط رطبة مثل مياه المحيطات أو في قاعها ، المياه العذبة ، المياه نصف المالحة ، المياه العكرة ، كما تعيش أيضا في التربة الزراعية وفي المواد العضوية المتحللة .

ويعتبر تصنيف الأوليات غاية في التعقيد ، فالكثير منها يقوم بتحويرات كبيرة خلال دورات حياتها ، ولابد لأي نظام تصنيف Classification لها أن يأخذ في الاعتبار دوره الحياة الكاملة . أيضا فان كل تلك الأوليات Protozoans تكون متحركة علي الأقل خلال أحد أطوار حياتها ولفترة طويلة شاع تقسيم البروتوزوا إستنادا إلى ميكانيكية الحركة فيها إلى خمسة صفوف Classes وهي:

1. Class: Rhizopoda or Amebalike forms (Sarcodina or Amebas)

صف اللحميات حيث تتحرك الحيوانات البالغة بواسطة الإنسياب البروتوبلازمي وتكوين الأقدام الكاذبة Pseudopodia

2. Class: Mastigophora (or Flagellates)

صف السوطيات وتكون الحركة بواسطة الفلاجلات (الاسواط)

3. Class: Ciliate (or Ciliates) صف الهدبيات

4. Class: Sporozoa (or Spore-forming parasitic forms)

صف الجرثوميات

تتحرك الجرثوميات Sporozoans بالأقدام الكاذبة فقط في الأطوار غير الناضجة ، ويكون المشيج الذكري Male gamete متحركا بالفلاجلات .

5. Class: Suctoria (Suctoreons) صف المصاصات

حيث أن الأطوار الحديثة منها تكون ذات أهداب أما الأطوار البالغة فتكون جالسة Sessile ومزودة بمجسات Tentacles

ثم استقر الرأي علي أن يقوم تقسيم شـــعبة البروتـــوزوا Phylum Protozoa علي أساس مجموعة خصائص منها: الحركة ، المورفولـــوجي ، طريقة التناسل ، وطريقة التغذية . وعلي ذلك فان شعبة الأوليات تصنف إلى اربعة تحت شعب 4 Subphyla وتسعة صفوف – 9 Classes كما يلي :

I. **Subphylum: Mastigophora**
   - **Class1: Phytomastigophorea**
   - **Class2: Zoomastigophorea**

II. **Subphylum: Sarcodina**
   - **Class: Actinopodea**
   - **Class: Rhizopodea**

III. **Subphylum: Sporozoa**
   - **Class1: Telosporidea**
   - **2: Cnidosporidea**
   - **3: Acnidosporidea**

IV. **Subphylum: Ciliophora**
   - **1: Ciliatea**
   - **2: suctorea**

ومن بين هذه الفئات التقسيمية للبروتوزوا ، فإن أنواعاً تتبع لثلاثة منها فقط هي التي تتواجد أو تعيش في التربة الزراعية وهي السوطيات Flagellates واللحميات Rhizopoda والهدبيات Ciliates

وتمر دورة الحياة في أغلب البروتوزوا بطور نشط Trophozoite (Vegetative or trophic stages) يحدث فيه التغذية والإنقسام وبطور سكون Encysted state غير نشط أكثر مقاومة عن الطور النشط للظروف السيئة التي توجد بالتربة الزراعية.

وتقدر أعداد البروتوزوا الموجودة بالأراضي بطريقة التخفيف (راجع برنامج الدراسة العملية لهذه المحاضرات) . ويميز بين الأنواع النشطة والأنواع الساكنة بمعاملة التربة بحمض HCl ٢% لمدة ليلة ، وبذا يتم التخلص من الطور النشط للخلايا . والتناسل الشائع في البروتوزوا هو من النوع اللاجنسي لكن هناك أنواعا تتناسل جنسياً .

ويكثر وجود البروتوزوا في الأراضي في الربيع والصيف ، وتوجد في الطبقة العليا من التربة ، وتقل أعدادها مع العمق ، وتتوقف أعدادها علي ظروف التربة خاصة محتواها من المادة العضوية والرطوبة والتهوية ، وعموما فإن أعدادها تتراوح ما بين ١٠- ٣٠٠ ألف /١جم تربة .

والبروتوزوا في تغذيتها إما مترممة تعيش علي المواد العضوية الميتة Saprozoic أو تلتهم الميكروبات الأخرى الأصغر حجما Holozoic وأكثر الكائنات التي تتغذى عليها البروتوزوا هي البكتريا . ولقد لوحظ انه عند تلقيح البكتريا والبروتوزوا في تربة معمقة فان أعداد البكتريا تزداد خلال الأسبوع الأول ويكون نمو البروتوزوا قليلا . ثم بعد ذلك تزداد أعدادها بسرعة ويتبع ذلك نقصا شديداً في أعداد البكتريا . وبعض أنواع

البروتوزوا يلزمها أعدادا كبيرة جدا من البكتريا لتنمو وتكمل دورة حياتها . ولقد قدر أن الخلية الواحدة من بعض أنواع اللحميات Sarcodina تحتاج إلى ٤٠,٠٠٠ خلية بكترية لتتمكن من الإنقسام .

وهذه النتائج تؤكد أن البروتوزوا يمكن أن تؤثر علي أعداد البكتريا بالتربة الزراعية . ومن الملاحظ أن أنواع البكتريا المختلفة تختلف من حيث مناسبتها كغذاء للبروتوزوا – فبعضها تلتهمه بشراهة وبعضها بدرجة أقل وبعضها غير ملائم لها . وعند تناقص أعداد البكتريا الصالحة كغذاء للبروتوزوا فإنها تدخل في مرحلة تحوصل حيث تظل ساكنة إلى إن تتحسن الظروف .

ورغم وجود البروتوزوا بالأراضي ، فان الدور الذي تلعبه بها غير محدد تماما ، غير أنه من الواضح أنها تلعب دورا في حفظ التوازن الميكروبي بالتربة بسبب تغذيتها علي البكتريا والخمائر وبسبب تغذية بعض أنواع الفطريات عليها . كما يعتقد أن البروتوزوا تلعب دورا في تحولات بعض العناصر الغذائية الموجودة بالتربة مثل تحلل المواد العضوية المحتوية علي الفوسفات ، هذا بالإضافة إلى أن الأنواع الممرضة منها التي قد تتواجد بالتربة تسبب أمراضا للإنسان مثل *Entamoeba histolytica* التي تسبب Amebiasis أي Amebic dysentery وكذلك *Balantidium Coli* الذي يسبب Balantidiasis أي Diarrhea وللحيوان وديدان الأرض ويرقات بعض الحشرات والحيوانات اللافقارية الأخرى.

وبالإضافة إلى البروتوزوا ، فانه يوجد بالتربة حيوانات أرقي Macrofauna تختلف أحجامها من ميكروسكوبية Microfauna مثل النيماتودا إلى دودة الأرض ويرقات الحشرات والنمل وعديدات الأرجل

والعناكب والقراد وجميعها يناسبها الوسط الهوائي والرطوبة المعتدلة والدفء. وتلعب ديدان الأرض دوراً هاماً في خصوبة التربة الزراعية حيث تقلب الأرض وتخلطها بالمواد العضوية وغير العضوية. ويستطيع بعض أفراد البروتوزوا تحمل نطاق واسع من درجات الـpH (٣,٢-٨,٧) وغالبيتها يناسبها ٦- ٨ pH حيث يكون عنده النشاط الأرضي أعلى ما يكون.

ومن الطبيعي أن البروتوزوا من الحاملات للكلوروفيل أي المشتملات علي حوامل اللون Chromatophores (Class Phytomastigophorea) والتي تعد في نظر علماء النبات ضمن الطحالب الخضراء حيث تقوم بعملية البناء الضوئي Photosynthesis ، يلزمها الضوء كمطلب لحياتها ، وكذلك الحال بالنسبة لتلك الأنواع من البروتوزوا التي تعتمد في تغذيتها على التهام الميكروبات الممثلة للضوء ،حيث يكون الضوء عاملا محددا للنمو أيضا.

الفيروسات Viruses

هي مجموعة كبيرة من الأجسام الحية المتباينة الأشكال والمتشابهة في كونها طفيليات إجبارية تعيش داخل خلايا العائل الخاص بها ، بمعني إنها لا تنمو مترممة علي المواد العضوية الميتة ولا علي البيئات الغذائية الإعتيادية ولكنها متطفلة اجباريا ولا تنمو إلا علي نسيج حي أو داخل العائل القابل للإصابة بها . وهذه الأجسام دقيقة الحجم جدا بدرجة تسمح بمرورها خلال المرشحات التي تمنع مرور الخلايا البكترية والرايكتسيات. ولكي نتصور صغر حجم الجزيئات الفيروسية ، فإن جدار خلية واحدة من أحد أنواع بكتريا جنس *Staphylococcus* يتسع لعدة آلاف من جزيئات الفيروسات الصغيرة ، وإن حجم جزئ الفيروس الكبير لا يزيد عن ربع حجم خلية واحدة من هذه البكتريا . وتنمو الفيروسات في أنسجة النباتات

والحيوانات والحشرات وبداخل خلايا البكتريا والكثير منها قد لا تضر العائل النامية بخلاياه ، وفي بعض الأحيان يمكنها أن تميزه ببعض الأعراض مثل الفيروسات التي تعيش في خلايا أبصال الزينة (Tulip) حيث تتسبب في إنتاج أزهار ذات تخطيطات جميلة بدلا من تميزها بلون واحد .وفي هذه الحالة فان إصابة النباتات بالفيروس تزيد من قيمة هذه الأزهار ، ولذلك يقبل الزراع علي عدوي نباتات التيوليب بهذا الفيروس للحصول علي أثمان مرتفعة .

وعند تواجد الفيروسات بجسم العائل فإنها تسخر خلايا العائل لصالحها ، فهي تجبرها علي تخليق بروتينات وأحماض نووية فيروسية بدلا من تخليقها للبروتينات و الأحماض النووية اللازمة لتكوين خلايا العائل ذاته.

وإذا رجعنا إلى تاريخ الدراسات الفيروسية لوجدنا أن باستير Pasteur عندما قام بدراسة مرض الكلب Rabies or hydrophobia بالرغم من عدم قدرته علي رؤية المسبب ، وأمكنه تحصين الإنسان أو الحيوان من الإصابة به ولم يكن بذلك أول من فتح الباب نحو دراسة الأمراض الفيروسية وفي الحقيقة الأمراض المتسببه من الإصابات الفيروسيه كان من الممكن التعرف عليها إكلينيكيا منذ عهد طويل قبل باستير . فأول مرض ميكروبي معد أمكن التوصل الى طرق للوقاية منه كان مرضا فيروسيا ، فقد قام Jenner ١٧٩٦م بدراسة مرض الجدري Smallpox وأمكنه تحصين طفل عمره ٨ سنوات بلقاح اخذ من بثرة جدري متكونه علي جسم شخص أخر مصاب . ولقد تمكن من تحصين ٢٣ شخصا بنفس الطريقة فلم يصب منهم شخص واحد عند التعرض للإصابة . وحاليا يحضر المصل الواقي من مرض الجدري

بتنمية الفيروس في جنين بيض الدجاج أو علي جلد العجول الصغيرة لمنع فرصة انتقال أمراض أخرى إلى الإنسان المحصن .

ولقد قام Iwanowski ١٨٩٢م بإعطاء الدليل الإيجابي علي وجود الفيروسات القابلة للترشيح عند دراسته لمرض موزايك الدخان (TMV) Tobacco Mosaic Virus حيث وجد أن عصارة النباتات المصابة عقب تمريرها في أحد المرشحات البكتيرية لازال في إمكانها عدوي نباتات سليمة.

وقام Beijerinck ١٨٩٨م بتأييد نتائج Iwanowski والذي إقترح أن العدوي تحدث نتيجة للسائل المعدي Contagium fluidum vivum أي أن الشئ المعدي موجود في السائل الناتج من الترشيح . وفي نفس العام ١٨٩٨م تمكن Frosch and Loeffler من إظهار ان مسبب مرض الفم والقدم في الماشية Foot and mouth disease (أي الحمي القلاعية) يمكنه أيضا أن يمر خلال المرشح البكتيري . ومنذ ذلك الوقت أمكن التعرف علي عديد من الأمراض التي تتسبب عن الفيروسات (أي العوامل القابلة للترشيح) والتي منها الجدري Smallpox والحصبة Measles ومرض الغدة النكفية (النكاف) Mumps والأنفلونزا والالتهاب الرئوي الكاذب Atypical Pneumomia والحمي الصفراء وشلل الأطفال ومرض الفم والقدم (الحمي القلاعية) وأمراض الحشرات والطيور وأمراض النباتات مثل الموزايك والاصفرار والذبول والتخطيطات والتبقعات . كما وجد أن منها ما يسبب أمراضا لخلايا البكتريا والاكتينومايستات .

وتحتوي جزيئات الفيروس أما علي DNA (فيروسات البكتريا) أو RNA (فيروسات النباتات) ولكن لا يتواجد النوعان من الأحماض النووية في جزئ الفيروس الواحد . ومن الجدير بالذكر أنه وجد DNA أو RNA في

فيروسات الحيوانات . ووجود نوع واحد فقط من تلك الأحماض النووية في جزئ الفيروس سمه مميزة للفيروسات تجعلها متميزة عن ما هو معروف عن وجود مثل هذه الأحماض النووية في الخلايا الحية ، والتي تحتوي بدون استثناء علي كلا من النوعين من الأحماض النووية.

ومن المعروف أن DNA أو الـ RNA هو المادة الحاملة للصفات الوراثية في كل الكائنات الحية ، إذن في حالة الفيروسات تحمل الصفات الوراثية علي الـ DNA أو الـ RNA حسب النوع الموجود منهما .

وقبل اكتشاف الميكروسكوب الإلكتروني كان من الصعب رؤية الفيروسات ، ولكن باكتشافه أمكن عمليا رؤية الأشياء ذات القطر الذي يبلغ من الدقة إلى ٠١ مليميكرون . ولقد أمكن تكبير هذه الأشياء إلى مائة ألف أو أربعمائة ألف مرة باستعمال الميكروسكوب الإلكتروني ، كما يمكن اخذ صورا لها وتكبيرها بدرجات اكبر عند الطبع لتصل إلى تكبير قدره مليون مرة .

حياة الفيروس :

لكل فيروس نشط Active or Virulent دوره حياه كاملة داخل عائله ، تتكون من حلقات متتابعة هي إصابته للخلية العائل ودخوله فيها ، وتكاثره بداخلها ثم خروج ذرارية منها كفيروس جديد نشط قادر علي العدوى. ونأخذ مثالا علي ذلك بكتريا *Escherichia coli* والتي تصاب بالبكتيريوفاجات التابعة لعائلة T ، ومنها سبعة سلالات (هي T1 ← T7) وهي فاجات نشطة ينشأعنها موت البكتيرة العائل وإنفجارها وتحللها . وفيما يتعلق بتكاثر الجزء النووي الخاص بالفاجة داخل البكتيرة العائل وجد أنه يزداد خلال النصف الثاني من فترة السكون بينما يقل مقدار الحمض النووي الخاص بالبكتيرة ويستمر ذلك إلى وقت نضج الفاجة . ويتكاثر الجزء

النيوكليكي (النووى) من الفاجة بسرعة وغزارة حتى لينتج من فاجة واحدة أحيانا نحو ٣٠٠ فاجة جديدة في ظرف ٢٤ دقيقة ويقدر وزن الفاجات الجديدة بعد نضجها بنحو عشر (١/١٠) وزن البكتيرة العائل . وهو ولاشك اكثر كثيرا من وزن الجزء النووي للفاجة الذي دخل البكتيرة . وعندما تبدأ فترة النضج تأخذ أجزاء الفاجات المتكاثرة في التجمع علي هيئة كروموسومات ثم علي هيئة التركيب النووي كالذي دخل الخلية من الفاجة الأصلية ، ثم يتكون مع كل تركيب نووي البروتين الخاص به ، ويحيط بها غشاء الرأس والذنب ، فيتم بذلك تكوين الفاجات الناضجة الجديدة . وتستغرق هذه العملية نحو ٥ دقائق في سلالة الفاج T2 . ويتجمع داخل البكتيرة عدد كبير من الفاجيات الجديدة يتراوح كما ذكرنا من ١٠٠ إلى ٣٠٠ حسب نوع الفاجة . وتنفجر البكتيرة عن الفاجات الجديدة بعد وقت معلوم من الإصابة يختلف باختلاف الفاجة والبكتيرة معا فيتراوح بين ١٣ – ٤٠ دقيقة . ويعبر عن هذه الظاهرة بالانفجار Burst وعن عدد الفاجات الناتجة من بكتيرة واحدة بحجم الانفجار Burst Size.

العلاقة الليسوجينية Lysogenic relation

تتميز فترة السكون في دورة حياة كاملة للفيروس النشط Lytic or Virulent بأن الفيروس يفقد خلالها صفاته السيرولوجيه ومقدرته علي العدوي وهذه الفترة تختلف من حيث طولها فتقصر حتي لتكون لحظات وجيزة أو تطول إلى بضع ساعات ، ويتم التكاثر للفيروس ويعقب ذلك فترة نضج تنتهي بانطلاق فيروسات نشطة قادرة علي العدوي .

ولنتكلم الآن عن فترة سكون أخرى في دوره حياة ناقصة ، فترة سكون طويلة يحدث خلالها تكاثر خضري محدود لا يعقبه نضج ، وهذا

النوع من السلوك يظهر في حالتين الأولى في الفيروس الكامن حيث لا تظهر للفيروس أعراضا علي العائل ، والثانية في بعض أنواع الفاجات التي تعيش في بعض البكتريا معيشة ليسوجينية تظل تتكاثر مع البكتريا من جيل إلى آخر دون أن تنضج أو أن تنفجر البكتيرية عن فاجات نشطة . والبكتريا الليسوجينية بكتريا سليمة غير مريضة ، ذات قدرة كامنة علي إنتاج فاجات ناضجة ، وفيها يكون الجزء النووي للفاجة كأنه مشتمل Inclusion من مشتملاته متداخل ومندمج في تكوينها الوراثي . فالعلاقة الليسوجينية بين فاجة وبكتيرة دليل علي إمكان قيام صلة مباشرة بين جسم جديد في الخلية ، له صفات الجين و بين الجزء النووي الوراثي للخلية .

وتختلف البكتيرة الليسوجينية عن غيرها في صفتين الأولى هي مقدرتها الكامنة علي انتاج الفاجات . وبما أن إنتاج الفاجات هي عملية مميتة للبكتريا العائل ، فإن هذه المقدرة تبقي في البكتيرة الليسوجينية كصفة كامنة . والثانية هي مقاومتها للفاجات المعتدلة Ttemperate phages إذ ثبت أن إصابة البكتريا الليسوجينيه بهذه الفاجات لا ينشأ عنها تكاثرها بداخلها وتتمتع كل بكتيرة ليسوجينية بصفة المقاومة ، فهي إذن أيضا صفة مظهرية (Phenotype) للبكتيرة الليسوجينية تشير إلى وجود بروفاجة Prophage داخلها وسنتحدث عن هاتين الصفتين كل علي حدة :

١) إنتاج الفاجات Phage Production

هناك وسيلتان تنتج بهما الفاجات من البكتريا الليسوجينية هما

أ. الإنتاج التلقائي Spontaneous production

ب. الإنتاج بالتأثير Induced production

وفي الحالة الأولى يتم الإنتاج تلقائيا تحت ظـروف طبيعيـة غيـر معروفه نسبته وحدوثه قليلة (معدل 10^{-2} : 10^{-5}) ويعادل عـدد الفاجـات المعتدلة التي تنطلق تلقائيا من بكتيرة ليسوجينية عدد ما ينطلق من بكتيـرة مصابة بفاج نشط Virulent . أما في الحالة الثانية فيكون الإنتـاج بتـأثير عوامل خارجية كالعوامل المطفرة Mutagenic agents أو العوامل المؤديـة لحدوث ورم Tumor inducing agents or carcinogenic agent والأشـعة فوق البنفسجية (UV) من أكثر هذه العوامل أثرا وأكثرهـا اسـتعمالا فـي التجارب . والبكتريا الليسوجينية هي وحدها التي ينطلق منها فاجات بالتأثير، وقابليتها لذلك صفة ترتبط بالبروفاجة وليس بالبكتيرة نفسها لأن إنتاج فاجات معتدلة بالتأثير هو نتيجة لتحول في حياه البروفاجة من تكاثر متوافـق مـع تكاثر البكتيرة الليسوجينية إلى تكاثر غير متوافق معها تكاثر متكرر ينتج عنه فاجات كثيرة ناضجة نشطة تموت البكتيرة على أثره .

٢) المقاومة :

تضفي البروفاجة علي البكتيرة الليسوجينية التـي تحتويهـا صـفة المقاومة للعدوي بفاجات أخرى قادرة أصلا علي إصابتها . وهناك حـالات تفقد فيها البكتيرة الليسوجينية مقدرتها الكامنة علي إنتاج فاجات فلا تتحـول البروفاجة بداخلها إلى فاجات معتدلة مطلقا نتيجة لحدوث طفرة خاصة فـي البروفاجة تحرمها ذلك . وتعرف هذه البروفاجة عندئذ بالبروفاجة الناقصـة Defective or Imperfect prophage ، كمـا يطلـق علـي البكتيـرة الليسوجينية التي تشملها "البكتيرة الليسوجينية الناقصة" . وفـي مثـل هـذه الحالات لا يمكن الكشف عن بكتيرة ليسوجينية توجد بـداخلها بروفاجـة إلا بصفة المقاومة التي تتمتع بها.

ولقد ثبت أن التربة الزراعية تحتوي علي فيروسات ممرضة لبعض أجناس البكتريا الهامة مثل : *Rhizobium, Enterobacter, Nocardia, Agrobacterium, Pseudomonas, Streptomyces, Azotobacter*

كما أن هناك فيروسات تصيب الطحالب الخضراء المزرقة وتسمي Cyanophage أو Algophages أو Phycoviruse وهي توجد مع الطحالب في الأنهار والبحيرات وأراضي الأرز . ومن أجناس الطحالب الخضراء المزرقة التي تصاب بالفيروسات نجد: *Cylindrospermum , Anabaena , Nostoc , Oscillatoria* . كما لوحظ حديثا وجود فيروسات تصيب الخمائر والفطريات والطحالب والبروتوزوا ، وتتميز هذه الفيروسات مورفولوجيا بأنها خالية من الذيل و بذا يمكن تمييزها من هذه الناحية عن فيروسات البكتريا . ومن الأجناس الفطرية التي تصاب بالفيروسات نجد *Fusarium, Mucor, Penicillium, Rhizopus, Aspergillus*

مما سبق يتضح أن وجود الفيروسات في التربة الزراعية خصوصا تلك الممرضة للنباتات والميكروبات من الممكن أن تؤثر علي خصوبة التربة وإنتاجيتها نتيجة الإضرار بعوائلها.

الفصل الثانى :

الإتزان الميكروبي في التربة الزراعية

Microbial Equilibrium In Soil

الفصل الثانى

الإتـــــزان الميكروبي في التربة الزراعية

Microbial Equilibrium In Soil

يوجد بين الميكروبات وبعضها أثناء معيشتها في أوساطها الطبيعية Natural habitant عديد من العلاقات التي تكون في حالة تغير باستمرار مما يعطي صفة ديناميكية مميزة للمجموعات الميكروبية في أوساطها الطبيعية . وتعد التربة من هذه الأوساط التي تبرز فيها هذه الديناميكية بحيث أنها تختلف من تربة إلي أخري . ومن الطبيعي أن المجتمع الميكروبي "العشيرة الميكروبية " Microflora في أي وسط يتحكم فيه الاتزان البيولوجي الناتج عن مختلف علاقات التعاون والتضاد والتداخل بين أفراد هذا المجتمع الميكروبي Microbial population وتؤدي التغيرات البيئية Environmental changes إلي إختلال مؤقت في الإتزان البيولوجيBiological balance ولكن حالة الإتزان لا تلبث أن تعود إلي مستواها العادي أو قد تعود بصورة معدلة قليلا لتلائم التغير الجديد في ظروف الوسط . ويمكن تقسيم صور العلاقات بين ميكروبات التربة إلي المجموعات الآتية:

أولا : علاقات الحياد Neutralism

وذلك عندما يكون النوعين الميكروبيين ليس لهما علاقة ببعضهما ولا يتأثر أيهما بنمو الآخر . هذه النوعية من العلاقات وإن كانت موجودة ، إلا أنها تكون نادرة الحدوث في الوسط الطبيعي للميكروبات ، حيث أنها تحدث تحت

ظروف معينة كأن يكون عدد الميكروبات في الوسط قليل ، والإحتياجات الغذائية لكل نوع يختلف عن أحتياجات النوع الآخر ، بالاضافة إلي وفرة الغذاء.

ثانيا : علاقات التعاون والنفع Beneficial relations

وتتطوي هذه العلاقات Mutual علي سلوك تشخيصي أو تعاوني يعـود بالنفع علي أحد النوعين أوعلي كل منهما . ومن هـذه العلاقـات التعـايش أو المعايشـة Commensalisms ، التنشـيط Synergism ، التعـاون Protocooperation والتكافل Symbiosis . وهذه الصور من العلاقات تظهـر واضحة بين ميكروبات التربة الزراعية . ومـن صـور العلاقـات النفعيـة Beneficial Associations في التربة الزراعية العلاقات الآتية :

١ – المعايشة Commensalism

هي علاقة بين نوعين أحدهما قادر علي مهاجمه وتحليل مادة لا يقدر الآخر علي تحليلها ، وتكون نواتج التحليل بواسطة الميكروب الأول ملائمة لتغذية الميكروب الثاني وهذه الصورة من التعايش تعتبر من أكثر العلاقـات التعاونية بين ميكروبات التربة . وهي صورة منتشرة في التربة ، وفيها مثلا يمكن أن تتحول عديد من السكريات المعقدة إلي صورة ملائمة لتغذية بعض المجموعات الميكروبية غير المتخصصة في تحليلها للمركب المعقد . ومـن الأمثلة الواضحة لذلك قيام محللات السليلوز Cellulose decomposers من بكتيريا وفطريات Cellulolytic ones بتحويلة إلي سـكريات بسـيطة أو

أحماض عضوية تستخدم بواسطة الميكروبات غير المحللة للسليلوز Non-cellulolytic ones.

أيضا هناك مثال آخر للمعايشة بين ميكروبات التربة يظهر من حاجة عديد من ميكروبات التربة إلي مواد مساعدة للنمو . Accessory growth substances . وهذه المواد المساعدة للنمو تكونها ميكروبات أخري ، ويؤدي إفرازها في الوسط إلي نمو الميكروبات المعقدة التغذية التي تحتاج إلى هذه المواد وذلك كما في حالة *Saccharomyces cerevisiae* التي تفرز أثناء نموها بعض المواد المساعدة علي النمو مثل الفيتامينات وحمض النيكوتينيك والبيورين فتشجع نمو الميكروبات الأخري المستفيدة Commensals مثل ميكروبات: *Proteus vulgaris* ، *Lactobacillus* spp.

أيضا هناك مثال آخر للتعايش يتلخص في قيام بعض ميكروبات التربة بتحليل السموم والمواد المثبطة للنمو التي تفرز في التربة نتيجة نشاط ميكروبات معينة ، وتحليل هذه المواد يعطي المجال للميكروبات الحساسة لها لتنمو وتقوم بنشاطها . والمثال الرابع للمعايشة بين ميكروبات التربة يتلخص في قيام الميكروبات الهوائية بالنمو وإستهلاك الأكسجين مما يسمح للميكروبات اللاهوائية بالنمو بسهولة بعد ذلك حيث اصبح الوسط ملائما لها .

٢ – التنشيط Synergism

من صور العلاقات النفعية والتعاونية التي توضح معني التنشيط ، ما لوحظ من أن تحليل بعض المركبات الطبيعية يكون أسرع في المزارع المختلطة عن المزارع الميكروبية النقية . وقد يعزي زيادة النشاط في المزارع المختلطة لقدرة أحد الميكروبين علي التخلص من نواتج التخمر التي قد تؤثر علي نمو

الميكروب الأخر ، أو أن أحد الميكروبين ينتج مواداً مشجعة لنمـــو الميكـــروب الآخر .

وعلي أية حال يمكن تلخيص معني التنشيط Synergism بأنه قدرة النوعين الميكروبين مع بعضهما علي القيام بعمل أو تفاعل لم يكن أي منهما قادرا علي القيام به منفرداً. وعلي سبيل المثال فإن كلا من *Proteus vulgaris* ، *Staphylococcus aureus* يمكنة تخمير سكر اللاكتوز منتجاً حمض بدون غاز , ولكن إذا لقحا الإثنان معاً فى أنبوبة إختبار واحدة بها مرق اللكتوز فإن الناتج يكون حمض +غاز . كما أن المزرعة الخليطه من *Streptococcus faecalis* *E.coli* يمكنها إنتاج مركب Putrescine من الأرجينين ولكن أى من الميكروبين علي حده لا يمكنه القيام بهذا التفاعل .

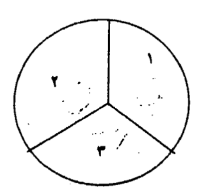
٣ – الحث Syntrophism

هو حث نمو ميكروب معين كنتيجة لتواجد نوع ميكروبي أخر معـــة أو بجواره في وسط النمو . والمثال علي ذلك هو تنميه طفرات من بكتيريـــا *Escherichia coli* ناقصة القدرات التخليقية Auxotrophs (بعضـــها تنمـــو فقط إذا أضيف الأرجينين إلي بيئـــه الحـــد الأدنـــي Minimal medium ، وأخري تنمو إذا تم إستبدال الأرجنين بالسترولين Citrulline أو الأورنثين Ornithine علي بيئة الحد الأدني المحتوية علي كمية بسيطة من الأرجنـــين تسمح بظهور نمو ضعيف من الطفرات الثلاث وذلك بعمل تخطيط مزدوج لكل طفرة في ثلث طبق بتري ، بحيث تتجاور الطفـــرات الـــثلاث (شـــكل رقم١) فيلاحظ غزارة نمو أحد الطفرات عنـــدما تنمـــو مجـــاورة للطفـــرة الأخري. ويعزي غزارة النمو هذه إلي أن أحد الطفرات تعمل علـــي تغذيـــة الطفرة الأولي بالمواد التي تكدسها (جدول رقم ٤) . ومن الطبيعي أنـــه إذا

حدث تعطل وراثي إنزيمي Genetic block عند موضع جين واحد فقط فإن الطفرة الناتجة يمكنها أن تقوم بالتفاعلات الأخـــري المحكومـــة بالجينـــات الأخري التي لم تعطل حيث يمكن للخلية أن تستعمل المواد الناتجة أو المواد الوسطية لسلسلة التفاعلات التي تسبق الجين المتعطل وراثيا والذي تتكـــدس عنده المواد الوسطية . وعلي ذلك فإن كل طفرة من الطفرات الثلاث (شـــكل رقم ١) يمكنها أن تكدس مواد التفاعل الخاصة بالأنزيم المعطل بهـــا وأن هـــذه المواد يمكنها أن تستعمل بواسطة طفرة أخري يكون أنزيمها المعطل عند خطوة أخري سابقة .... وهكذا.

جدول رقم ٤ : نمو طفرات *E. coli* المحتجة إلي حمض ارجنين

رقم الطفرة	المواد المضافة إلي بيئة الحد الأدني		
	أرجينين	سترولين	أورنيثين
1	+	–	–
2	+	+	–
3	+	+	+



شكل رقم ١ : يبين ظاهرة الـــSyntrophism الحث الميكروبى

وعلي ضوء النتائج المبينة بالجدول رقم ٤ يمكن إقتراح طريقة تخليق حمض أرجنين حيويا بداخل الخلايا ، فمثلا الطفرة رقم ١ يبدو أن جهازها التخليقي معطل في الخطوة التي تسبق الارجنين مباشرة والطفرة رقم ٢ تكون معطلة مباشرة قبل تكوين السترولين والطفرة رقم ٣ تكون معطلة قبل تكوين الأورنيثين مباشرة كما يلي:

أورنثين3 ← سترولين2 ← أرجنين1 ←

مثال أخر يتلخص في أن كل من *Lactobacillus arabinosus* و *Streptococcus faecalis* يمكنها أن تنمو مستقلة عن الأخري ولكنهما ينموان أفضل عندما يكونا في مزرعة خليطة (معا) حيث ثبت أن *Streptococcus faecalis* يمد *Lactobacillus arabinosus* بكميات طيبة من الحمض الأميني فينايل آلانين Phenylalanine في حين أن الميكروب الثاني يمد الميكروب الأول بفيتامين حمض الفوليك Folic acid الذي يلزمها. وقد تسمي هذه العلاقة بالتكافل الغذائي Nutritional symbiosis . ومثل هذه العلاقة الغذائية لوحظت في التربة بين عديد من الفطريات والبكتيريا حيث يعاون كل منها الآخر في الإمداد باحتياجاتة من الأحماض الأمينية والفيتامينات والبيورينيات .

٤ – التعاون Protocooperation

هي علاقة بين نوعين ذات فائدة كبيرة لكل منهما ، ولكن غياب هذه العلاقة لا يؤثر علي وجودهما ، أي أن التعاون ليس إجباريا بينهما Non-obligatory mutualism . والتعاون له أهميه خاصة في تثبيت النيتروجين الجوي بواسطة ميكروب الأزوتوباكتر *Azotobacter* sp. ، فهذه الميكروبات تثبت النيتروجين الجوي ولكنها تحتاج إلي مصادر كربون

عضوية سهلة ، وعلي ذلك ففي وجود مادة كربوأيدراتية معقدة مثل السليلوز فإن ميكروبات الأزوتوباكتر يمكنها فقط تثبيت النيتروجين الجوي خلال وجودها مع بكتيريا محللات السليلوز القادرة علي تحويل السليلوز إلي سكريات بسيطة وأحماض عضوية . وبالمثل في حاله وجود النشا والمواد الكربوايدراتية الأخري التي لا يستطيع الأزوتوباكتر تمثيلها . وقد تعيش الأزوتوباكتر في معيشة تعاونية أيضاً مع الطحالب التي تمد الأزوتوباكتر بما يلزمها من الكربوايدرات التي تبنيها في عملية التخليق الضوئي من CO_2.

٥ – التكافل Symbiosis

وفية يعتمد كلا النوعين علي الآخر ويستفيد كل منهما من وجود الآخر معة . فيقوم عدد كبير من البكتيريا والأكتينومايستات وبعض الطحالب الخضراء المزرقة بتثبيت النيتروجين الجوي في عقد جذرية بالاشتراك مع بعض النباتات معراة ومغطاة البذور Gymnospermae–Angiospermae وفيما يلي تلخص صور التكافل في العقد الجذرية .

١. التكافل بين الرايزوبيا والنباتات البقولية
Rhizobia – legume symbiosis

٢. التكافل بين الرايزوبيا والنباتات غير البقولية (جدول ٥)
Rhizobia – non legume symbiosis

٣. التكافل بين الأكتينومايستات والنباتات غير البقولية (جدول ٥)
Actinomycetes – non legume symbiosis

٤. التكافل بين الطحالب الخضراء المزرقة ومعراة البذور (جدول ٥ ، ٦)
Blue green algae – gymnosperms symbiosis

جدول رقم ٥ : النباتات غير البقولية التي تكون عقدا جذرية

Endophyte	Symbiotic plant
I : *Rhizobium*	Angiosperms مغطاة بذور Trema, Zygophyllum
II: Actinomycetes *(Frankia)*	*Alnus, Coriaria, Hippophae, Casuarina, Myrica*
III: Blue green algae	Gymnosperms معراة بذور *Cycas, Zamia, Macrozamia*

جدول رقم ٦ : تكافلات الطحالب الخضراء المزرقة

Symbiotic plant	Genera	Phycobiont (Endophyte)
Fungi (lichens)	*Collema, Peltigera*	*Nostoc*
Bryophyta (liver – worts)	*Anthoceros, Blasia*	*Nostoc*
Pteridophyta (ferns)	*Azolla*	*Anabaena*
Gymnosperm(cycads)	*Cycas, Macrozamia.*	*Nostoc, Anabaena*
Angiosperm	Gunnera (stemsymbiosis)	*Nostoc*

وكما هو معروف ، فأن أي من النبات أو البكتريا المتكافلين لا يستطيع تثبيت النيتروجين الجوي في الحالة الحرة ولكن التثبيت يتم فقط خلال معيشه تبادل المنفعة Symbiosis . وكذلك الحال بالنسبة لتكافلات الطحالب الخضراء المزرقة . ومن صور تبادل المنفعة بين النباتات والفطريات هي قيام فطريات الميكورهيزا Mycorrhizae يعمل شعيرات جذرية علي جذور بعض النّباتات فتساعدها علي إمتصاص الغذاء والماء وفي نفس الوقت يأخذ الفطر إحتياجاته الغذائية من النبات . وكذلك من صور هذا التكافل أيضا نبات الأزولا (سرخس مائي) مع الطحلب وكذلك الأشن

(تكافل فطر وطحلب). ويوضح جدول رقم ٧ مدي اعتماد الميكروب علي العائل ، حيث تزداد حالة التعاون كلما اتجهنا لأسفل.

جدول ٧ : إزدياد الإعتماد علي العائل النباتي.

	Microbe	Host plant
اتجاه زيادة التعاون	Soil *Enterobacter*	Roots
	Azotobacter Paspali	*Paspalum* grass
	Cowpea Rhizobium	*Trema*
	Rhizobium meliloti	Alfa alfa *(Medicago)*
	Anabaena azollae	*Azolla*
	Frankia	*Alder*

ثالثا: علاقات تضاد Antagonistic Relations

ومنها التنافس Competition ، الإضرار Amensalism ، الإفتراس Predation ، التطفل Parasitism . – وفيما يلي نناقش أهم صور العلاقات بين ميكروبات التربة .

علاقات التضاد Antagonistic Associations

أظهرت الدراسات أنه عند تلقيح ميكروب في تربة معقمة فإنه ينمو بسرعة ويصل إلي أعداد كبيرة ، بينما إذا أجري التلقيح في تربة غير معقمة فإن نمو الميكروب يكون بطيئاً . وقد يختفي الميكروب ثانية من التربة بعد أيام أو أسابيع ، وهذا طبعا ناتج من التأثيرات الضارة لميكروبات التربة علي الميكروب الملقح . ووجود تأثير ضار لنوع من الميكروبات علي الأنواع المجاوره ظاهرة منتشرة في التربة ، وتظهر بوضوح في نقص الأعداد أو النشاط للميكروبات الحساسة. والعلاقات الضارة أو التنافسية بين نوعين من

الميكروبات في التربة تكون عديدة مما يؤدي إلي وجود نضال دائم علي البقاء ، وتبقي في الوسط الميكروبات الأقدر علي التأقلم لهذه الظروف المحيطة.

وقد يحدث التنافس بين كائنات من أنواع مختلفة ويسمي هذا الطراز من التنافس " تنافس بين الأنواع Interspecific competition" أو قد يحدث بين كائنات من نفس النوع ويسمي "تنافس داخل نوعي Intraspecific competition" . وتختلف الكائنات في قدرتها علي التنافس حيث تزداد قدرة الميكروب علي التنافس إذا ما توفرت له واحد أو أكثر من العوامل التالية:

١ – معدل نمو أسرع.
٢ – قدرة علي تحمل الظروف البيئية المتغيرة من حرارة ، رطوبة ، pH،
٣ – قدرة علي تمثيل وتخزين المواد الغذائية والعوامل المشجعة علي النمو.
٤ – القدرة علي التحرك والهروب من المواقع غير المناسبة.

وصور التنافس الميكروبي يمكن تلخيصها في تنافس بين الأنواع علي كمية محدودة من الغذاء أو الأكسجين أو في إنتاج مواد سامه تحبط نمو الأنواع المجاورة . والتنافس علي مصادر الكربون أو النيتروجين أو العناصر المعدنية أو الأكسجين تعد من صور التنافس علي الغذاء.

ولقد درست العلاقة التنافسية بين ميكروبات التربة تحت ظروف المعمل بإستخدام فطر *Fusarium oxysporum* كميكروب اختبار Test organism ولقد أظهرت الدراسة أن كثيراً من بكتيريا التربة تحبط نمو هذا الفطر وثبت أن الميكانيكية الأساسية لهذا الإحباط كانت التنافس معه علي الغذاء وخصوصا مصدر النيتروجين حيث أمكن تلافي هذا التأثير المثبط بإضافة المزيد من المصدر النيتروجيني.

ومن ناحية المواد المثبطة للنمو ، فإن بعض الكائنات المجهرية تنتج أحماضاً أثناء نشاطها الغذائي مثل حمض الكربونيك ، الكبريتيك، النتريك، وهذه تؤثر علي الميكروبات الحساسة للحموضة.

كما أن من الميكروبات ما يفرز ، كنواتج للتمثيل الغذائي ، موادا سامه للكائنات الأخرى منها ما يوقف نمو البكتيريات Bacteriostatic أو يقتلها Bactericidal. ومن هذه السموم ما تفرزه الطحالب المزرقة والذهبية والـ Dinoflagellates وتسمي هذه المواد phytotoxins تنتشر في الوسط مسببه موت الأصداف والأسماك والطيور والثدييات في الأوساط المائية . كما أن بعض الفطريات تفرز سموما تسمي توكسينات فطرية Mycotoxins مثل Aflatoxins وتفرزه بعض الفطريات التي من أهمها *Aspergillus flavus* المنمي علي البذور خاصة حبوب الفول السوداني . ومن المواد الهامة التي تفرزها ميكروبات التربة أيضا مضادات الحيوية Antibiotics .

ومع أن أعداد الميكروبات المنتجة لمضادات الحيوية في التربة تكون كبيرة ، فإن دورها في الاتزان الميكروبي وأهميتها في تحديد الأنواع السائدة في التربة غير معروف جيداً ، ومع ذلك فهناك من الشواهد ما يبين أهمية الميكروبات المنتجة لمضادات الحيوية في التربة منها :

١ – وجود أعداد كبيرة من الميكروبات في التربة لها القدرة علي إحباط نمو ميكروبات أخري عند اختبارها في المعمل.

٢ – أن فطريات التربة الأصلية تقاوم فعل مضادات الحيوية عن الفطريات الخارجية .

٣ – زيادة إفراز مضادات الحيوية عند إضافة المواد العضوية للتربة . وفي نفس الوقت فإن إضافة مضادات الحيوية للتربة يعتبر أحد الوسائل المستخدمة في مقاومة أمراض النبات.

ويري البعض أن الأنتشار الواسع للميكروبات المنتجة لمضادات الحيوية في التربة أدي إلي إعطائها أهمية أكبر من اللازم من الناحية الأيكولوجية ولكن بالدراسة الدقيقة لم يمكن بيان صورة واضحة لدورها . والذين يعارضون الأهميه الكبيرة لمضادات الحيوية في التوازن الميكروبي في التربة يستندون علي مجموعة حيثيات منها :

١. لم توجد شواهد تثبت أن قدرة الميكروب علي إفراز المضاد الحيوي يزيد من قدرة هذا الميكروب علي المنافسة والتواجد وأن الميكروبات المنتجة لمضادات الحيوية ليست أكثر تواجداً من الميكروبات غير المنتجة لمضادات الحيوية .
٢. لم يمكن ايجاد علاقة بين الميكروبات التي توجد بأعداد كبيرة في التربة وحساسيتها أو مقاومتها للمضادات الحيوية بل نقد ثبت في كثير من الأحوال أن أكثر الميكروبات وجودا في التربة هي الحساسة للمضادات الحيوية.

أن مضادات الحيوية لو أضيفت للتربة أو تكونت فيها فإنها تفقد نشاطها بسرعة عن طريق إدمصاصها أو نتيجة تفاعلات كيماوية تحللها ميكروبيا وعلي أية حال ، فإن من علاقات التضاد أو التنافس التى وجدت في التربة الزراعية ما يلي:

١ – التنافس Competition

وفيها يتنازع النوعين علي نوع محدود من الغذاء أو الأكسجين اوالمكان أو أي ضرورة من ضروريات البقاء مما يؤدي إلي أن نمو أحدهما يسود علي نمو الآخر.

٢ – الإضرار Amensalism

وفيها يضار أحد النوعين من وجود الأخر ولكن الميكروب الآخر لا يتأثر وذلك نتيجة إفراز النوع المؤثر لمادة سامة للنوع المتأثر أو لقيامة بتغيير ظروف الوسط . علي سبيل المثال فإن كل من *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa* لهما فعل تضادي تجاه الفطر *Aspergillus terreus* ، فهناك صبغات معينة تفرزها بكتيريا السيدوموناس تثبط إنبات جراثيم الأسبرجلس ، وتنتج ميكروب *Staph . aureus* مادة تنتشر في الوسط ، لها تأثير تضادي فطري تسبب تشوه وانتفاخات الهيفات الفطرية للفطر المذكور.

٣ – الإفتراس والتطفل Predation and Parasitism

وفيه يهاجم أحد النوعين مباشرة النوع الأخر. ونظرا لهذه العلاقات التنافسية (التضاد) المتعددة فإنه من الصعب نجاح تلقيح ميكروب غريب في تربة ونجاحة في الإستمرار وتكاثره فيها ، وذلك لأن غياب هذا الميكروب أو وجودة بأعداد قليلة في التربة من الأصل قبل وضعه فيها يظهر أن ظروف هذه التربة غير ملائمه لنموه . ومن هذا يتبين أن التغيرات التي تحدث بعد إضافة نوع غريب من البكتيريا أو الفطريات إلي التربة تكون وقتية وعادة ما يموت هذا النوع ويختفي بعد فترة.

الإفتراس Predation

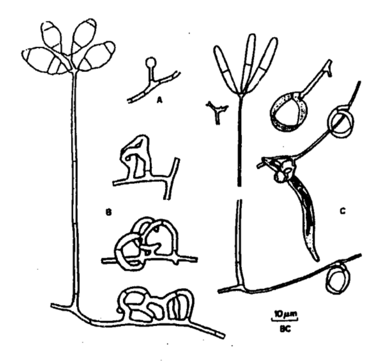
ـ يقوم المفترس Predator بالتغذي علي الفريسة Prey مسببا موتها . وعادةً ما تكون الفريسة أصغر حجما وأكثر عددا من المفترس . ويطلق علي هذا النوع من التغذية اسم Phagotrophic feeding من الميكروبات المفترسة ما يلي:

Protozoa, Myxomycetes ,e.g. *Dictyostelium,* Myxobacteria, e.g, *Myxococcus, Chondrococcus, Polyangium, Archangium* and Dinoflagellated algae , *e.g.,Oxyrrhis , Gymnodinium*

ويلاحظ أن كلا من البروتوزوا والفطريات اللزجة والميكسوبكتريا تكون واسعة الأنتشار في التربة، وإن كانت الأخيرة أقلهاعدداً.

وهناك مجموعه من الفطريات التي تعيش بالتربة و يطلق عليها الفطريات القانصة Trapping fungi أو المفترسة Predatory fungi تهاجم النيماتودا إما بتكوين حلقات تقع فيها الفريسة أو بتكوين إنتفاخات Sticky bulbs من الأفرع الجانبية للهيفات (وهذة كلها تسمي فخاخ Snares) تلتصق بها ديدان النيماتودا، وقد تنشأ منها ممصات تخترق جسم النيماتودا ثم تمتص محتوياتها البروتوبلازمية شكل رقم ٢ .

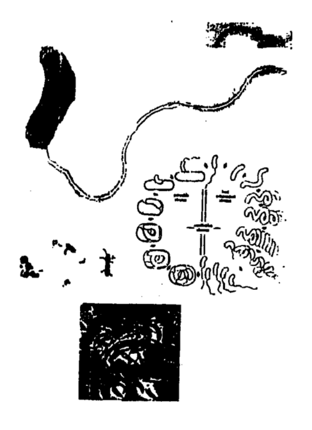
ومعظم الفطريات ذات المقدرة علي قنص وإفتراس النيماتودا تتبع مجموعة الفطريات الخيطية Hyphomycetes ، وهي فطريات ناقصة تنتج الكونيدات علي خيوط فطرية قطنية Cottony hyphae مفككة ، وتقسيميا تقع في شبة صف Form class Deuteromycetes . كما أن بعض أفراد رتبة Zoopagales (Class zygomycetes) لها القدرة علي إفتراس النيماتودا ، ولكن الشائع عنها بصفة عامة هو إفتراس الأميبات Amoebae ، الحيوانات جذرية الأقدام Rhizopods (Rhizopde) أو الحيوانات المدوارات Rotifiers (Rotifera) .



شكل رقم ٢ : فخاخ الفطريات المفترسة

A : إنتفاخ صمغى صغير
B : خطاطيف ملتفة *Dactylaria thaumasia*
C : هيفات ملتفة فى صورة حلقات *Arthrobotrys dactyloides*

ومع أن أفراد هذه الرتبة الأخيرة لا تمتلك بطريقة جلية ، فخاخ خاصة Special snares ، إلا أن كونيداتها قد تبتلع وتنبت بداخل جسم الحيوان أو قد تلتصق بجسده ثم تخترقه عند تكون أنبوبة الإنبات Germ tube شكل رقم ٣ .



شكل رقم ٣ : الفطريات التى لها القدرة علي قنص وإفتراس النيماتودا

تعتبر البكتيريا أكثر الأحياء الدقيقة الموجودة تعرضـا للإفتـراس ، ومن أكثر الأحياء قدرة علي إفتراس البكتيريا البروتوزوا ، وهذه بتغـذيتها علي الملايين من البكتيريا يمكن أن تؤثر علي التوازن البيولـوجي ، فقـد لوحظ مثلا أنة في التربة المسمدة تسميداً عضوياً جيداً ، فإن هنـاك علاقـة عكسية بين أعداد البكتيريا والبروتوزوا . ولكن عموماً فإن أثر ذلـك علـي البكتيريا لا يصل إلي درجة خطيرة حيث أن أعداد البروتوزوا أيضا يـتحكم فيه الإتزان البيولوجي وعموما ، فإنه تحت الظروف العادية ، فإنـه توجـد حاله إتزان بين أعداد المفترسات وأعداد الضحايا.

من ملتهمات البكتيريا أيضا الفطريات الهلاميه حيث تتغــذي عليهــا مباشرة مؤثرة علي أعدادها حيث أن لهذه الفطريات مرحلة من النمو تشــبة فيها الأميبا. يكثر وجود الميكسوبكتيريا Myxobacteria في أكــوام الســماد وبقايا الإسطبلات وروث الحيوانات ، حيث يكون أعداد البكتيريا وفيها كبير جدا، وبذلك تسنح الفرصة لزيادة أعداد الميكسوبكتيريا في هــذه المصــادر بالتغــذي علــي البكتيريــا . والميكســوبكتيريا تــذيب خلايــا البكتيريــا Bacteriolysis أولاً بما تفرزة من إنزيمات خارجية محللة ثم تمتص المواد المذابة للتغذية عليها.

والقدرة علي تحليل lysis الميكروبات ليســت محــدودة فــي الــ Myxobacteria فإن تغذية البكتيريا علي هيفات الفطريات ظاهرة معروفــة ولقد أمكن مشاهدتها كثيرا في تكنيك الشــريحة المطمــوره Buried slide technique. وقدرة البكتيريا علي تحليل الفطريات يمكــن أن تكــون أحــد العوامل المؤثرة علي إنتشار الفطريات في التربة. فكثير مــن الميكروبــات التابعة لجنس *Bacillus* (مثل *B. pumilis*) يمكن أن تفرز إنزيمات خارجية قادرة علي تحليل ميسيليوم الفطريات وهضمها، وهذه الظاهرة أيضا شوهدت بين أنواع من جنس Streptomyces. وجدول رقم ٨ يوضــح الميكروبــات المفرزه لانزيمات محلله والميكروبات التي تتأثر بها.

Table 8 : Microorganisms producing lytic enzymes and species susceptible to these enzymes

Lytic Organism	Susceptible to lysis	Resistant to Lytic Species
		Bacteriolytic organisms
Aeromonas	*Bacillus, Clostridium*	*Pseudomonas, Salmonella*
Chalaropsis	*Streptococcus Corynebacterium*	*Mycobaterium. Proteus*
Flavobacterium	*Pediococcus,Staphylococcus*	*Micrococcus*
Myxobacterium	*Arthrobacter, Micrococcns*	*Arthrobacter, Escherichia*
Sorangium	*Bacillus, Sarcina*	*Rhizobium, Xanthomonas*
Streptomyces	*Corynebacterium,Bacillus*	*Streptococcus, Sarcina*
		Mycolytic organisms
Agrobacterium	*Achlya, Pythium*	-------
Bacillus	*Alternaria,Penicillium*	*Pythium, Saccharomyces*
Pseudomonas	*Fusarium*	*Rhizoctonia*
Streptomyces	*Aspergillus, Sclerotium*	*Cladosporium, Rhizoctonia*
Streptomyces	*Mucor, Penicillium*	*Alternaria,Helminthosporium*
verticillium	*Hemileia, Puccinia*	--------

وظاهرة تحلل الخلايا الميكروبية Cell lysis ظاهرة واسعة الإنتشار ويعود ذلك التحلل في الأراضي إلي ظاهرتين الأولى هى ظاهرة التحلل الخليط Heterolysis وفية تتحلل جدر الخلايا أو الهيفات بواسطة انزيمات خارجية تفرزها الكائنات المهاجمة ، والخلايا التي تحللت جدرها تصبح غير قادرة علي المحافظة علي مكوناتها وتفقد حيويتها وتموت . أما الظاهرة الثانية فهى التحلل الذاتي Autolysis وفيه يحدث تحلل ذاتي للخلية الميكروبية أوالهيفات بواسطة إنزيمات تفرزها الخلية بنفسها أو تتحلل الخلايا ذاتياً بسبب نقص التغذية . وتتعرض مجموعة كبيرة من الفطريات للتحلل من النوع الخليط Heterolysis بواسطة الإنزيمات التي تفزوها بعض أنواع

البكتيريا والأكتينومايستات مثل *Pseudomonas, Nocasdia, Streptomyces, Bacillus* والتحلل ليس مقصورا فقط علي الهيفات بل يمتد إلي الجراثيم اللاجنسية كالجراثيم الكونيدية والاسبورانجيه وغيرها، وإن كان تحللها يكون بدرجة أبطأ من تحلل الهيفات . وتتميز الكائنات المهاجمه بقدرتها علي إفراز إنزيمات خاصة بتحليل جدر الخلايا التي تهاجمها ، ومن هذه الأنزيمات Cellulase, Chitinase and Peptidoglycan hydrolyzing enzymes وهي تحلل السليلوز والكيتين الموجود في جدر الفطريات وكذلك طبقة الميورين الموجوده في جدر البكتيريا والطحالب الخضراء المزرقة .

بعض أنواع البكتيريا تقاوم عملية الإفتراس بما تفرزة من مواد لزجة أو بما تكونة من كابسول Capsule كبير أو بتركيبات معينة في جدر خلاياها أو بما تفرزة من توكسينات أو من صبغات كما في حالة البكتيريا الملوثة مثل أجناس *Chromobacterium* . *Serratia* مما يصعب عملية الإفتراس Predation أو قد يعيقها تماما . لذلك نجد أن الكائنات المفترسة Predators نختار ضحاياها من أنواع معينة . وجدول رقم ٩ يوضح نماذج لهذا الإختيار.

ويتوقف معدل الأفتراس علي نوع المفترس والفريسة والظروف البيئية المحيطة . ومن التجارب المعملية وجد أن البروتوزوا تستطيع في كل دورة انقسام لها أن تلتهم ما يزيد علي عشرة آلاف خلية بكتيرية .

Table 9 : Food choices of predators with broad and narrow prey specificities

Predator	Prey
Dictyostelium discoideum	Nonfasitidious Predators *Aerobacter*, *Bacillus*, *Flauobactrium*, *Micrococcus*, *Pseudomones*
Dimorpha	Flagellates, unicellular algae
Mayorella bigemma	Ciliates, diatoms, flagellates, nematodes, rhiaopods, rotilers
Noctiluca	Distems, dinoflagellates, metazoa
Oxyrrhis marina	Chrysuphyta, Chlerophyta, Crypcophyta, Rhedophyta, Bacillariophyta
Uronychia transfuga	Algae, bactria, ciliates , Faotudious ciliates
Actinobolina radians	Halteria
Didinium nosutum	Paramecium
Woodruffia metabolica	Paramecium
Nassula citrea	Oacillatoria filaments

ويوضح جدول رقم ١٠ معدل الإفتراس لبعض الميكروبات . كما يوضح الشكل رقم ٤ التغير في كثافة أعداد البراميسيوم الذي يتغذي علي نوع من الخمائر هو *Schizosaccharomyces pombe*.

Table 10 : Predator consumption rates

Predator	Prey	No. of Prey Consumed
Amoeba proteus	*Tetrahymena pyriformis*	28-47/hr
Didmrum nsutum	*paramecium aurelia*	3/cell division*
Leurophryl patus	*Glaucoma pvrtfonnis*	50/cell division
Paramecium caudatum	*Bacillus subtilis*	18,000/cell division

* The number of cells consumed in the time required for an individual predator to give rise to two daughters.

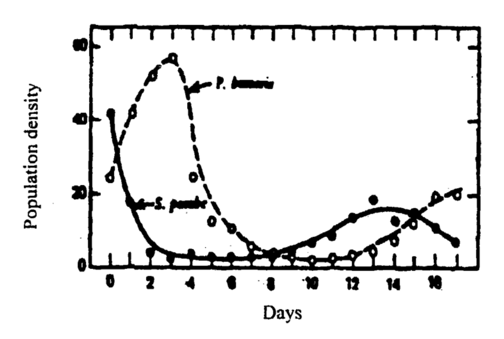


Fig (4) : Fluctuations in population density of paramecium bursaria feeding on *schizosaccharomyces pombe* in vitro

التطفل Parasitism

الطفيل Parasite كائن يتغذي علي خلية أو نسيج عائل اخر عادةً أكبر منه حجما فيسبب له الضرر . ومن التطفل حالة تميز معيشة بعض أنواع من البكتيريا والفطريات والبْروتوزوا بالإضافة إلي الفيروسات . وقد يكون التطفل إختياريا Facultative parasitism حيث يستطيع الكائن أن ينمو مستقلا أو متطفلا لبعض الوقت ، أو قد يكون إجباريا Obligate parasitism حيث لا ينمو الكائن إلا علي أو في العائل الحي كما في الفيروسات والرايكتسيات . ويشمل جنس *Bdellovibrio* ميكروبات هامة زراعيا مثل *B.bacteriovorus* وهو ميكروب متحرك عن طريق فلاجات طرفية قطبية شكل رقم ٥ وحيدة ، ويعيش في فترة حياته إجباريا كطفيل داخل الخلايا البكتيريه للأنواع الأخري ويعتبر ذلك ضروريا لكي ينمو ويتكاثر . ويتواجد هذا الميكروب بكثرة في المياة والأراضي الزراعية والسماد حيث يتواجد أعداداً غزيرة من البكتيريا السالبة لجرام . ولقد عُزل من الحمأة النشطة Activated sludge حيث تتواجد أعداداً وفيرة من بكتيريا القولون . وظاهرة تطفلة داخل الخلايا البكتيرية تشبه لحد كبير ظاهره التحلل الفاجي للخلايا البكتيرية مع بعض الإختلافات . وبصفة عامة فإن أفراد جنس *Bdellovibrio* والتي لها خاصية الفتك بالخلايا البكتيرية الأخري ، لها أهمية زراعية حيث تؤثر علي الميزان الميكروبي في التربة الزراعية والسماد البلدي.

وفي بداية مرحلة التطفل فإنها تلتصق بسطح الخلية العائل ثم تنفذ من جدار الخلية وتسكن بين الجدار والغشاء السيتوبلازمي ثم تتكاثر علي حساب الخلية ، وتكون عدة أجيال في خلال ساعات ثم تتحلل خلية العائل وتخـــرج

منها لتهاجم غيرها وهكذا . ويبين شكل رقم ٦ تطور أعداد الديللوفبريو عند نموها مع أحد العوائل مثل .Erwinia spp .



Fig 5 : Attachment of *Bdellovibrio bacteriovorus* to a bacterial cell

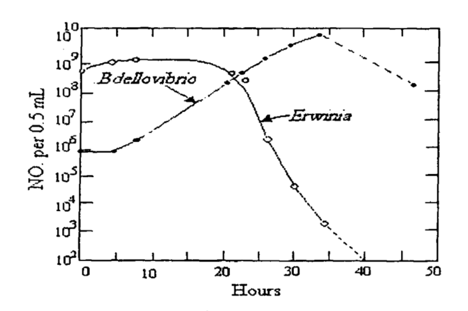


Fig 6 : Deveolopment of *Bdellovibrio bacteriovorus* on *Erwinia amylovora.*

وفي بعض الأحوال فإن الفــاج Bacteriophage يلعــب دوراً فــي تحديد أعداد الميكروب الحساس له ، ومن المعــروف أن لكــل ميكــروب

فيروس خاص به ، فإذا وجد الفيروس المتخصص في التربة فإنه يغزو خلايا العائل ويتكاثر داخلة ليكون أعدادا كبيرة من الفيروس ثم تتحلل خلايا الميكروب المصاب ويغزو الفيروس غيرها وهكذا . وقد تؤدي الإصابة بالفيروس إلي تقليل وإختفاء نوع معين من البكتيريا كما لوحظ من بعض الدراسات أن سبب عدم تكون العقد الجذرية علي بعض النباتات البقولية هو إصابة البكتيريا العقدية بالفيروس ويتناقص عددها تبعا لذلك.

كما أن تأكيد مقدرة بعض الفطريات علي التطفل علي فطريات أخري مما يؤدي لإختفاء الفطر الحساس من التربة ، ويظهر التطفل بإختراق هيفات التطفيل لهيفات العائل أو بإلتفافها حولها . وسبق أن تعرضنا لإفتراس الفطريات للنيماتودا والبروتوزوا وتوضيح كيفية إمساكها بها ثم إختراق هيفات الفطر لها والتغذي عليها.

الفصل الثالث :

ميكروبات سطح النبـــــات
(الفايتوسفير)

Plant Surface Microflora
(Phytosphere)

الفصل الثالث

ميكروبات سطح النبات

Plant Surface Microflora

يحتوي سطح النبات (الفايتوسفير Phytosphere) سواء الذي يقع منه فوق سطح التربة أو تحتها علي أعداد كبيرة ومتنوعة من الكائنات الدقيقة منها المتطفلات ومنها غير المتطفلات . ومن هذه الكائنات الدقيقة ما ينمو علي أسطح النباتات السليمة ومنها ما يوجد علي النباتات غير السليمة والمتهتكة والمتحللة . وكل جزء من أجزاء النبات (جذر – ساق – ورقة – زهره – ثمرة) يمثل وسطا بيئيا مناسبا لمجموعة مميزة من هذه الكائنات الدقيقة. ومن الطبيعي ، فإن تغير الظروف البيئية المحيطة بالنبات أو الظروف الفسيولوجية الخاصة به ، تؤدي إلي حدوث تغيرات عددية ونوعية (Qualitative&Quantitative) بالميكروبات المحيطة بالنبات . ومن تلك العوامل المؤثرة التي تحدث تلك التأثيرات الكمية أو النوعية تذكر الأتي : الرش بالمحاليل المغذية والهورمونات والمثبطات ، إفرازات النبات ، التفاعل المتبادل بين سطح النبات والكائنات الدقيقة ، نظام تتابع الكائنات الدقيقة علي السطح ، استعمال المبيدات ، الأمراض النباتية .

ومن المصطلحات العلمية الخاصة بعلاقة الميكروبات بأجزاء سطح النبات ما يلي : Edaphosphere, Histosphere, Rhizonphere, Rhizoplane وذلك فيما يتعلق بميكروبات منطقة المجموع الجذري والتربة البعيدة . Caulosphere, Cauloplane وذلك فيما يتعلق بميكروبات منطقة الساق . Phyllosphere, Phylloplane وذلك فيما يختص بميكروبات منطقة الأوراق .Gemmisphere وذلك فيما يختص بمنطقة البراعم وما يحيط بها

ويطلق مصطلح Phytosphere علي كل من الريزوسفير (وهو الوسط النباتي في التربة Terrestrial plant environment) والفيللوسفير والكاولوسفير والجمى سفير (والثلاثة جميعهم كناية عن الوسط النباتي الهوائي Aerial plant environment) . والعلاقات التي تربط الفيللوسفير والنبات والريزوسفير والوسط المحيط كوحدة بيئية يوضحها الشكل رقم ٧.

وفيما يلي سوف نتعرض لهذه المجموعات الأيكولوجية وخصائص المجتمعات الميكروبية بكل منها.

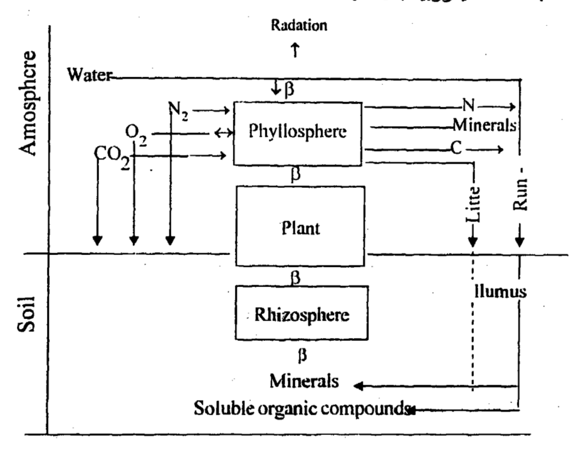


Fig. 7 : Phyllosphere interrelationships in the compartments of the ecosystem

أولا : ميكروبيولوجيا المنطقة المحيطة بجذر النباتات Rhizosphere

من المعلوم منذ وقت طويل أن جـذور النباتـات تحـدث تغيـرات واضحة كبيرة في النشاط الميكروبيولوجي في التربة ، ونتيجة لـذلك فـإن التربة المنزرعه تحتوي أعداداً كبيرة ونشاطا حيويا أكثر من التربة البـور Fallow or non-cultivated soil

ولقد أظهرت الدراسات الأيكولوجية أن الميكروبات تتركز بأعـداد ضخمة حول جذور النباتات النامية ، ولقد صـيغ مصـطلح Rhizospher بواسطة Hiltner عام ١٩٠٤ للدلالة عن المنطقة المحيطة بجذور النباتات ، وحيث تكون ذات نشاط بيولوجي عالي وتميز عن المنطقـة البعيـدة عـن الجذور ، وبذلك عرفت منطقة الريزوسفير بأنها المنطقة من التربة التي تكون فيها الكائنات الدقيقة متأثرة بجذور النبات. ولقد تعددت البحوث حـول هـذه المنطقة وأوضحت النتائج أن البكتيريا المحيطة بجذور النباتات تكـون لهـا أثاراً واضحة علي نموها ، وأنها تلعب دوراً خاصـاً فـي إذابـة وتيسـير العناصر المعدنية للنباتات ، كما يمكن في بعض الظروف أن تنافس النبـات علي العناصر المعدنية الموجودة بنسب محدودة.

كما ثبت من هذه البحوث أيضا أن التأثير المشجع لجذور النباتـات علي الكائنات الدقيقة بتلك المنطقة ليس متساويا لمختلف المجاميع الميكروبية، كما أن هذا التأثير يختلف من نبات إلي آخر وحسب عمر النبات ، كمـا أن حالة النبات النامي تنعكس بوضوح علي ميكروبات هذه المنطقـة . ونظـرا لأن أعداد وكذا أنواع الكائنات الدقيقة في كل من سطح الجذور المباشر من ناحية ، والتربة المحيطة بالجذور من ناحية أخري تختلف إختلافا كبيراً فإن

المتخصصون في هذا المجال الدقيق يميلون إلي تقسيم هـــذه المنطقـــة مـــن الوجهة الأيكولوجية إلي منطقتين متميزتين هما :

a. Rhizosphere (=the outer rhizosphere) وهى المنطقة القريبة المحيطة بالجذور

b. Rhizoplane (= root surface) وهو سطح الجـــذور المباشـــر حيـــث تلتصق به الميكروبات

ولقد أضيف إلي القسمين a,b قسما ثالثاً هو:

c. Histosphere (=the inner rhizosphere) وهـــو منطقـــة القشـــرة بالجذروالتي تسكنها الميكروبات المترممة .

أما منطقة التربة البعيدة عن الجذور فتسمي Edaphosphere.

تأثير جذور النباتات علي ميكروبات الريزوسفير:

تؤثر جذور النباتات علي ميكروبات الريزوسفير بطـــرق عديـــدة ، فتنفس الجذور وإخراجها كميات كبيرة من CO_2 يؤثر في الـــ pH حولها ، كما أن امتصاص الجذور للأيونات المعدنية يحدث تغييرات واضـــحة فـــي المنطقة المحيطة بالجذور ، فمـــن المعـــروف أن الجـــذور لهـــا خاصـــية الإمتصاص الإختياري لبعض الأيونات بمعدلات أعلي من أيونـــات اخـــري حسب حاجة النبات ، مما يحدث تغييرات في تركيب الأيونات فـــي محلـــول التربة Soil solution حول الجذور عن التربة البعيدة عن الجذور .

ولكن أهم العوامل المؤثرة علـــي النشـــاط الميكروبـــي فـــي هـــذه المنطقة (Rhizosphere) هو دور الجذور في إمداد الميكروبات بكثير مـــن مصادر الطاقة والعناصر الغذائية في صـــورة أجـــزاء الجـــذور المتقطعـــة والخلايا الميتة والممزقة وإفرازات الجذور المختلفـــة . والأخيـــرة يختلـــف

تركيبها من نبات إلي أخر مما ينعكس علي أنواع الميكروبات السائدة . وكل هذه العوامل تؤثر تأثيراً منشطاً علي الميكروبات في المنطقة المحيطة بالجذور . مما يجعل أعداد الميكروبات فى هذه المنطقة أعلى بكثير من التربة البعيدة عن الجذور .

كل ما سبق يوضح باختصار ، تأثير جذور النباتات علي الميكروبات في منطقة الريزوسفير ، وهو تأثير يحدد مع عوامل أخري أنواع وأعداد الميكروبات بتلك المنطقة . ومن البديهي ، فإن الإختلاف في تركيب العشيرة الميكروبية Microflora في منطقة الريزوسفير عن التربة البعيدة عن الجذور كما ونوعا يرجع لهذه التأثيرات المختلفة . ولقد أدت هذه التأثيرات المختلفة إلي أن أعداد الميكروبات في منطقة الجذور Rhizosphere أعلي بكثير عن أعداد ميكروبات التربة العادية البعيدة عن الجذور (Edasphere). كما أن أنواع الميكروبات السائدة حول الجذور تختلف في نسبتها عن التربة البعيدة عن الجذور . وفي العادة يقاس التأثير الذي تبديه الجذور علي الميكروبات سواء علي أعداد الميكروبات الكلية أو علي أنواع محدودة من الميكروبات بتقدير ما يسمي " بتأثير الريزوسفير "Rhizosphere effect وذلك بتقدير نسبة R :S Ratio

وهي عبارة عن العشيرة الميكروبية في منطقة الريزوسفير (R) في الجرام الواحد من التربة الجافة مقسوما علي العشيرة الميكروبية في التربة البعيدة عن الجذور soil (S) في الجرام الواحد من التربة أيضاً . وهذا التقدير (الكثافة العددية) يعطي مقياسا واضحا لتأثير الجذور علي الميكروبات، فإذا كانت النسبة R:S ratio لمجموعة ميكروبية Microbial group أكبر من ١ ، كان معني ذلك أن للجذور تأثير مشجع علي هذه

المجموعة الميكروبية أي تأثير موجب . وبالعكس إذا قل مقدار النسبة عن – ١ كان التأثير مثبطا – أي تأثير سالب . وكلما زادت قيمة النسبة R:S ratio كان ذلك دليلاً علي أن التأثير المشجع أكبر.

أما لتقدير تأثير معاملة ما علي ميكروبات الريزوسفير ، فيمكن استخدام المعادلة التالية:

$$R:S\ \text{effciency} = \frac{Rt - Rc}{St - Sc}$$

حيث أن :

Rt= عدد ميكروبات الريزوسفير المعامل (بمعاملة ما موضع الدراسة).

Rc = عدد ميكروبات الريزوسفير غير المعامل (المقارنه– كنترول)

St = عدد ميكروبات التربة البعيدة عن الجذور (المعاملة بمعاملة موضع الدراسة) .

Sc = عدد ميكروبات التربة البعيدة عن الجذور (غير المعاملة المقارنه)

وبذلك يمكن حساب التأثير الفعلى للمعاملة Treatment على ميكروب منطقة الريزوسفير . ولقد ثبت من بعض الدراسات أن التأثير المشجع للريزوسفير يظهر والنبات لا يزال عمرة ٣ أيام فقط حيث وصلت نسبة الـ R:S في هذا العمر إلي ١:(١٢–٢٣) وأن هذا التأثير يزداد مع نمو البادرة ، ويرجع ذلك لإفرازات الجذور اساسا وليس للأنسجة النباتية الممزقة من الجذور والشعيرات الجذرية . ومع تقدم النبات في العمر فإن الأنسجة الممزقة والميتة هي التي تؤثر علي الميكروبات . وعندما يصل النبات إلي طور النضج ، فإن أعداد الميكروبات تبدأ في التناقص حتي تصل أعداد الميكروبات أخيرا إلي مستواها العادي في التربة الزراعية .

وتتأثر الميكروبات في منطقة الريزوسفير أيضا بنوع النبات النامي وبصفة عامة فإن النباتات البقولية لها تـأثير ريزوسـفيري Rhizosphere effect مشجع أكثر من نباتات الحشائش والحبوب فقد تصل النسـبة (R:S) إلي ١- ٢٥ في حالة زراعات الحشائش والحبوب علي حـين تصـل إلـي ٥٠:١ في حالة البقوليات . كما ثبت أن الـ R:S ratio تكون عادة أعلي في التربة قليلة الخصوبة والفقيرة في العناصر الغذائية عـن التربـة الخصـبة والغنية بالعناصر الغذائية.

ولقد ثبت من الدراسات أن ميكروبات الريزوسفير لاتختلـف كمـاً ونوعاً عن ميكروبات التربة البعيدة عن الجذور فقط ، ولكـن أيضـا فـإن الأنواع المعزولة من الريزوسفير تكون أكثر نشاطا عن مثيلاتها التي تعيش بعيدا عن الجذور وأكثر كفاءة تمثيلية . وقد يمكن تفسير ذلـك بـأن حالـة التزاحم الميكروبي حول الجذور تجعل الظـروف البيئيـة غيـر مناسـبة للميكروبات الضعيفة بطيئة النمو وبهذا يحدث انتقاء Selection للميكروبات الأكثر كفاءة ويكون لها السيادة في هذه المنطقة .

تأثير الريزوسفير علي أنواع الميكروبات:

سبق أن أوضحنا أن الميكروبات المختلفة تظهر درجات مختلفة من التأثر بالجذور ، لذلك ليس مستغربا أن نجد بعض المجموعات الميكروبيـة يزداد أعدادها كثيرا في منطقة الريزوسفير ، بينما مجموعـات ميكروبيـة أخري يكون لجذور النباتات تأثيرا مثبطا عليها فتقل أعدادها في الريزوسفير عن التربة البعيدة عن الجذور ، كما أن هناك أنواعا أخري لا تتأثر نسـبتها كثيراً .

وفيما يلي نشير لبعض التأثيرات النوعية لميكروبات الريزوسفير ، خاصة ما يختص بالمجموعات الميكروبية الهامة والمرتبطة بخصوبة التربة وكذا بعض المجموعات الميكروبية الواسعة الانتشار في التربة :

١ – للريزوسفير تأثيرا مشجعا علي البكتيريا السالبة لجرام وخاصة بالأجناس *Arthrobacter, Xanthomonas, Pseudomonas*

٢ – وجد أن الأنواع *Bacillus circulans* , *Bacillus brevis* , B.*polymyxa* أكثر إنتشارا في الريزوسفير ، عن التربة البعيدة عن الجذور.

٣ – تختلف إستجابة أفراد جنس *Azotobacter* لتأثير الريزوسفير باختلاف النبات النامي وكذلك عمره . وبصفة عامة فلقد تبين أن ميكروبات *Azotobacter* ، *Azospirillum* ، *Bacillus polymyxa* تلعب دورا هاما في تثبيت النيتروجين الجوي في ريزوسفير النجيليات خاصة قصب السكر والذرة والقمح.

٤ – من أكثر الميكروبات أستجابة للتأثير المشجع للريزوسفير هي بكتيريا النشدرة Ammonifying bacteria حيث تصل نسبة الـ R:S لهـا إلـي عدة مئات وتفسير ذلك هو وجود مركبات نيتروجينية بنسبة عالية في هذه المنطقة حيث تقوم هذه البكتيريا بمعدنتها Mineralization . وعلي الرغم من ذلك فقد لوحظ أن كمية المعدنه لمركبات النيتروجين العضوية فى التربة المنزعة أقل من التربة غير المنزرعة . ولقد فسّر ذلك على أساس النشاط الزائد للميكروبات فى منطقة الريزوسفير وقيامها بعملية تمثيل المركبات النيتروجينية في أجسامها Immobilization .

٥ – للريزوسفير تأثير مشجع علي بكتيريا تحليل السليلور ، وأكثر الأنواع وجوداً في منطقة الريزوسفير هـــي . "*Cytophaga* spp" والبكتيريـــا العصويات القصيرة المحللة للسليلوز.

٦ – بخصوص تأثير الريزوسفير علي الفطريات ، فقد ثبت أن الفطريـــات توجد في هذه المنطقة علي حالة ميسيليومية نشطة حيث تشجع إفـــرازات الجذور إنبات الجراثيم الفطرية ونمو الميسيليوم الخضري ، بل أن جراثيم بعض الفطريات لا تنبت إلا في وجود جذور نباتات معينة .ونظرا لوجود أغلب الفطريات في منطقة الريزوسفير في الحالة الخضرية النشطة ، فإن تقدير أعداد الفطريات بطريقة الأطباق لا يظهر أن للريزوســفير تـــأثير مشجع واضح علي الفطريات ، واكن إذا نظرنا لأثر الجذور علي الكتلـــة الحيوية للفطريات فإن النتائج توضح أن هناك تأثيراً مشجعاً واضحاً علي الفطريات . وعلاوة علي ذلك فإن تأثير الجذور يؤدي إلـــي تغييـــر فـــي الأجناس السائدة حول الجذور مقارنة بالتربة البعيدة وبالطبع يكون لجذور النباتات تأثيرا مشجعا علي فطريات الميكورهيزا Mycorrhizae الخاصة بهذه النباتات.

٧ – تأثير الريزوسفير علي الطحالب لا تزال النتائج الخاصـــة بـــه غيـــر واضحة الاتجاه .

٨ – بخصوص البروتوزوا ، فالدراسات تشير إلـــي زيـــاده أعـــدادها فـــي الريزوسفير ، ويمكن تفسير ذلك علي أساس أن البروتوزوا تتغذي علـــي البكتيريا ومن ثم فإن الزيادة في أعداد البكتيريا في الريزوسفير يصـــحبه زيادة في أعداد البروتوزوا.

التركيب الكيميائي لإفرازات الجذور:

أجريت دراسات عديدة علي التركيب الكيميائي لإفرازات الجذور التي يعزي إليها أغلب التأثير المشجع للميكروبات في منطقة الريزوسفير، ووجد أن السكريات والأحماض الأمينية تكون الجزء الأكبر من هذه الإفرازات هذا إلي جانب وجود مركبات أخري بكميات قليلة مثل فيتامينات ، إنزيمات ، جلوكوسيدات ، نكليوتيدات ، فلافينات ، أوكسينات ، إندولات ....الخ.

من الأحماض الأمينية والمركبات الشبيهه التي تفرزها الجذور وجد حمض الجلوتاميك ، أسبارجين ، حمض أسبارتيك ، آلانين ، ليوسين، أرجنين ، جليسين / حمض بارامينوبيوتريك ، بيتا آلانين ، ايزوسيرين ، فينايل آلانين، سيستين ، سيستئين، برولين، مثيونين، ليسين،تربتوفان ، تيروزين ، ثريونين . وعموما فإن المركبات السائدة من هذه المواد تختلف بإختلاف نوع النبات وحالته وأن هذه الإختلافات تعتبر عامل مؤثر علي الفلورا في منطقة الريزوسفير مما يؤدي إلي إختلافات واضحة في تركيب العشيرة (المجتمع) الميكروبية كماً ونوعاً بين النباتات المختلفة .

كما بينت الدراسات وجود عديد من السكريات في افرازات الجذور منها جلوكوز ، فركتوز ، سكروز ، مالتوز ، أرابينوز ، رافينوز ، رامنوز وهذه السكريات تلعب دوراً هاماً في تشجيع الميكروبات في الريزوسفير .

وثبت أيضاً وجود حوالي ١٠ أحماض عضوية في إفرات الجذور وكثير من عوامل النمو Growth factors مثل كولين ، بيريدوكسين ، ثيامين، بيوتين ، نياسين ، بانتوثينات . كما لوحظ وجود بعض الأوكسينات Auxins والإنزيمات والمركبات الفسفورية العضوية وغيرها .كما تبين أن

الجذور تفرز علاوة علي ما سبق موادا لها تأثيرات مثبطة مثل المركبات الفينولية . وجدول رقم ١١ يلخص حصراً للمواد التي وجدت في ريزوسفير نباتات نامية تحت شروط تعقيم.

جدول رقم ١١ : المواد التي تفرزها نباتات نامية تحت ظروف تعقيم

المجموعة الكيميائية	المركبات المفرزة
أحماض آمينية	تقريبا كل الأحماض الآمينية التي توجد طبيعيا
أحماض عضوية	خليك ، بيوتريك ، ستريك ، فيوماريك ، لاكتيك ، ماليك ، أكساليك ، بروبيونيك ، سكسنيك ، فاليريك ، طرطريك
كربوهيدرات	أرابينوز ، ديزوكسي ريبوز ، فركتوز ، جلكتوز ، جلوكوز ، مالتوز ، مانوز ، رافينوز ، ريبوز ، سكروز ، زيلوز – علاوة علي بعض عديدات التسكر
قواعد عضوية	أدنين ، جوانين ، سيتوزين ، يوريدين
عوامل نمو	بارأمنيوبنزوات ، بيوتين ، كولين ، اينوسيتول ، حمض نيكوتينيك ، بانتوثينات ، بيريدوكسين ، ثيامين
إنزيمات	أميليز ، إنفرتيز ، فوسفاتيز ، بروتييز
مركبات أخري	أوكسينات ، جلوتامين ، جلوكوسيدات ، حمض هيدروسيانيك ، باراهيدروكسي بنزوات ، ببتيدات ، سابونين

تأثير ميكروبات الريزوسفير علي النبات

Effect of rhizosphere microflora on plant

ثبت أن العلاقات بين ميكروبات الريزوسفير وجذور النباتات تكون متعددة ومتنوعة ، فمنها جوانب مفيدة ومنها جوانب ضارة ، كما أن لهذه الميكروبات علاقة كبيره بأمراض النباتات ، وسوف نناقش كل منها فيما يلي:

أ = التأثيرات المفيدة لميكروبات الريزوسفير علي النباتات :

ثبت من دراسات عديدة دور الميكروبات في إذابة الفوسفات غير الذائبة في التربة ، وبالتالي تيسيرها للنباتات ، كما أتضح دور الميكورهيزا Mycorrhizae في امتصاص النبات للفوسفور والبوتاسيوم ،كما أن ميكروبات الريزوسفير تزيد من تيسير Availability الحديد والمنجنيز للنبات . وقد يفسر دور ميكروبات الريزوسفير في يسر هذه العناصر المعدنية علي أساس المركبات العضوية التي تكونها أثناء عمليات التمثيل الغذائي ، وهذه المركبات تكون معقدات مع العناصر المعدنية أو تعمل عمل المركبات المخلبية Chelating compounds في تسهيل دخول هذه العناصر إلي النبات . وأوضحت كثير من الأبحاث أن كثير من ميكروبات الريزوسفير تكون موادا بيولوجية لها تأثيرات مشجعة لنمو النباتات ، فقد ثبت أن الكثير من هذه الميكروبات له انمقدرة علي إفراز Gibberelins ,auxins والمواد الشبيهة . ومثل هذه المركبات معروف دورها في تشجيع إنبات البذور وتكون الشعيرات الجذرية و زيادة نمو النباتات وقابليتها علي امتصاص العناصر.

كما تبين أن ميكروبات الريزوسفير لها تأثير مفيد علي العلاقة التكافلية بين بكتيريا العقد الجذرية وجذور النباتات البقولية حيث ثبت أن بعض سلالات الرايزوبيا Rhizobia لا تكون فعالة في الظروف المعقمة ، ولكنها تكون فعالة في وجود ميكروبات الريزوسفير العادية .

ب = التأثيرات الضارة لميكروبات الريزوسفير علي النباتات :
Injurious effects of rhizosphere microflora on plants

هناك أعداداً كبيرة من ميكروبات الريزوسفير ذات نشاط تمثيلي عالي في المنطقة التي تمتص النباتات منها غذائها ، الأمر الذي قد يكون له في بعض الأحوال تأثيرات ضارة علي نمو النباتات خصوصا عندما تتنافس هذه الميكروبات مع النباتات علي بعض العناصر الضرورية الموجودة بكمية محدودة في التربة أو الأكسجين . وهناك إعتقاد بأن ميكروبات الريزوسفير تنافس النبات في إمتصاص النيتروجين من التربة ، حيث تأخذ هذه الميكروبات جزء من النيتروجين الممعدن في التربة وتستخدمه في بناء أجسامها من خلال عملية الـ Immobilization . ولقد لوحظت علاقات مشابهة مع عناصر غذائية أخرى ، فمثلاً ثبت أن بعض ميكروبات الريزوسفير تؤكسد عنصر المنجنيز مما يقلل من تيسيره للنبات .

كما ثبت من بعض الدراسات أن المواد الحيوية التي تكونها الميكروبات في منطقة الريزوسفير قد تكون لها تأثيرات ضارة علي نمو النباتات في بعض الأحوال ، وقد لوحظ مثل هذه التأثيرات للتوكسينات Toxins ومضادات الحيوية Antibiotics وغيرها . كما ثبت أن بعض الميكروبات تفرز موادا سامة للنباتات ، وتكون هذه المواد السامة يكون عادةً مرتبطاً بوجود مادة عضوية سهلة التحلل مع نقص في التهوية .

جـ = علاقة ميكروبات الريزوسفير بأمراض النبات

Relationship between rhizosphere microflora and plant diseases

ميكروبات الريزوسفير عادةً غير ممرضة ، ولكن العلاقات بين هذه الميكروبات سواء التشجيعية أو التنافسية في منطقة الريزوسفير قد يكون لها أهمية خاصة بالنسبة للميكروبات الممرضة للنباتات ، لأن هذه الميكروبات الممرضة سوف تخترق منطقة الريزوسفير حتى تصل إلي النبات وتبدأ في عملية الإصابة . والعلاقة الميكروبيولوجية في الريزوسفير قد تؤدي إلي إستبعاد أو إحباط نمو الميكروب الممرض أو في ظروف أخري قد تؤدي إلي تنشيطه.

ومن المعروف أن كثيرا من الميكروبات الممرضة للنباتات تقضي جزءً من حياتها في التربة ، مما يعرضها للتأثيرات المضاده للميكروبات التي تعيش في التربة وخصوصا ميكروبات الريزوسفير . ويعود التأثير المثبط لميكروبات التربة علي نمو الميكروبات الممرضة للنبات إلي واحد أو أكثر من العوامل التالية :

١ – التأثير المباشر نتيجة التطفل.

٢ – تكوين مضادات حيوية .

٣ – انتاج أحماض بما يغير الـ pH إلي الدرجة التي لا تناسب الميكروبات الممرضة.

٤ – التنافس علي العناصر الغذائية.

٥ – تنشيط المناعة في النبات العائل.

ومن الملاحظات التي تشاهد بكثرة أن فطريات التربة الممرضة Soil borne pathogenic fungi تكون أشد ضراوة بالنبات في التربة المعقمة عن تلك غير المعقمة.

وفي دراسة جادة أجريت إتضح منها أنه عندما ينمي *Xanthomonas* sp. مع *Fusarium solani* مسبب مرض تعفن الجذور Root rot في مزرعة خليطة فإن الأول يكون مستعمرات كثيفة علي هيفات الفطر وتؤدي تلك العملية إلي حدوث تجمع الميسيليوم وتلونة بلون وردي ثم يموت الفطر . ولقد إتضح من نفس الدراسة أن إفرازات جذور الذرة تعمل علي تشجيع نمو *Xanthomonas* spp علي حين لا يحدث مثل هذا التشجيع من قبل إفرازات جذور الشعير ، وعلي ذلك لوحظ أن شدة مرض تعفن الجذور المتسبب عن الفيوزاريوم *Fusarium* sp تكون أقل في التربة التي كانت منزرعة سابقاً بالذرة من قبل زراعة النبات الحساس لتعفن الجذور .

كما تم التوصل إلي تفسير التأثير المثبط لفطريات الـ Endomycorrhizae علي الكائنات الممرضة للجذور ، حيث أنه يغزو الميكورهيزا للجذور تحدث بها تغيرات فسيولوجية تزيد من مقاومتها للكائنات الممرضة مثل فطر *Fusarium oxysporum* في جذور الطماطم ونيماتودا *Meloidogyne incognita* في جذور القطن .

وهناك إعتقاداً بأن اختلاف أصناف النبات الواحد في قابليتها للإصابة بالأمراض ربما يرجع إلي الاختلاف في طبيعة إفرازات جذور هذه الأصناف مما يسبب إختلافاً واضحاً في ميكروبات الريزوسفير لهذه الأصناف ، وهذا بدوره ينعكس علي نشاط الميكروب الممرض.

ولقد لوحظ أن أصناف الكتان المقاومة للأمراض تفرز جذورها مادة linamarin والتي عند تحللها بواسطة ميكروبات الريزوسفير يتكون سيانور الهيدروجين Hydrogen cyanide والذي يحبط نمو الميكروبات الممرضة مثل فطريات *Fusarium* , Helminthosporium

ثانيا: ميكروبيولوجيا المنطقة المحيطة بسطح الأوراق "الفيللوسفير"

Microbiology of Phyllosphere

المنطقة الملاصقة للسطح الخضري للنبات خاصة أسطح الأوراق تمثل وسطاً مناسباً لنمو الميكروبات عليها من حيث وجود رطوبة وحرارة مناسبة مع مورد مستمر من المواد الغذائية ، فسطح الأوراق مثلها كمثل الجذور تفرز الكثير من المواد مثل السكريات أو الكربوهرات والأحماض الآمينيه والمواد المنشطة للنمو مثل مشتقات حمض الجيريلليك و غيرها من المواد التي تشجع نمو الميكروبات . وكذلك تجد الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي ظروفا مناسبة لنموها أكثر من غيرها من الميكروبات . وعموما فإن الأدوارالتي تلعبها ميكروبات الفيللوسفير (سطح الورقة) تكون متعددة حيث أن منها المترمم غير الضار الذي يقوم بتحليل الشموع النباتية أو ما يقوم بإفراز عوامل النمو ومنها ما يضاد الميكروبات الممرضة ويحد من أثرها ومنها ما يثبت النيتروجين ومنها الضار الذي يمرض النبات العائل ويسبب له أضراراً عديدة .

ميكروبات الفيللوسفير Phyllosphere microorganisms

يمكن تلخيص نتائج الدراسات التي أجريت في هذا المجال فيما يلي :

١. يوجد علي سطوح أوراق النبات العديد من الميكروبات التي تنمو وتتكاثر في تتابع وإتزان ديناميكي مع الوسط المحيط.
٢. تحتوي سطوح الأوراق في طور البادرات علي أقل عدد من الميكروبات، ويزيد العدد بازدياد عمر النبات ، ويصل أقصاه عند نضج النبات وبدء أصفرار الأوراق ويعود ذلك إلي أن إفرازات الأوراق المشجعة لنمو

الميكروبات تزيد بازدياد عمر الأوراق ثم تقل الأعداد عند مرحلة تكوين البذور

٣. أكثر أنواع الميكروبات وجودا علي سطوح الأوراق هي البكتيريا يليها الخمائر خاصة المنتجة للصبغات Pigmented yeasts ثم الفطريات ثم الأكتيومايستات . أما الطحالب فوجودها شائع علي أوراق النباتات الاستوائية وعلي جذوع وفروع أشجار المناطق المعتدلة ولكنها نادرة الوجود علي أوراق نباتات المناطق شبة الاستوائية . ومن حيث الفيروسات المتطفلة علي البكتيريا والفطريات الموجودة علي سطوح الأوراق فإن دورها غير معروف تماما حتي الآن.

٤. تحتوي سطوح الأوراق Phyllosphere خاصة في المناطق الحارة والأستوائية علي أعداد كبيرة من الميكروبات تصل إلي ١٠^٧ / سم٢ للبكتيريا ، ١٠^٤ /سم٢ للفطريات ، ١٠^٤ /سم٢ للأكتينيومايستات.

٥. قد تصل أعداد الأزوتوباكتر *Azotobacter* إلي ١٠^٧ /سم٢ ومن الأنواع الشائعة من هذا الجنس *Az.chroococcum* ، *Az.vinelandii*

٦. وجدت الـ *Beijerinckia* spp. بكثافة تصل إلي٢ × ١٠^٧/سم٢ أحيانا.

٧. من الميكروبات المثبتة للنيتروجين بكمية قليلة Asymbiotic oligonitrogen fixing bacteria والتي وجدت علي سطوح الأوراق ما يلي: *Azomonas* , *Azospirillum* , *Klebsiella* , *Bacillus* , *Mycobacterium*

٨. بالإضافة لهذه البكتيريا ، فقد وجد أيضا علي سطوح الأوراق أنواعا ميكروبية تتبع لـ : *Pseudomonas* , *Achromobacter* ,

Flavobacterium , Cladosporium , Micrococcus علاوة علي وجود طحالب وخمائر ويروتوزوا علي أسطح الأوراق.

ومن أهم الخمائر التي عزلت من منطقة الفيللوسفير بالأراضي المصرية هي الخمائر غير المتجرثمة خاصة : *Cryptococcus albicans* ، *Rhodotorula glutinis* . وتمتاز الخمائر الملونة (*Rhodotorula*) باحتوائها علي صبغات كاروتينية تحميها من التأثير الضار لأشعة الشمس والأشعة فوق البنفسجية . أما خمائر الـ *Cryptococcus* فإن لها كبسولة تحميها . وبصفة عامة تمثل الخمائر غير المتجرثمة حوالي ٧٠- ٨٠% من أنواع الخمائر المعزولة من الفيللوسفير ، أما الخمائر المكونة لجراثيم أسكية فإن أعدادها قليلة جداً . ولقد ثبت أن بعض الميكروبات تصل إلي سطوح الأوراق والأجزاء النباتية الهوائية من التربة والماء والحشرات والطيور والحيوانات الأخرى لذلك وجب التمييز بين الميكروبات القاطنة Resident والميكروبات المنقولة Transient .

تتأثر أعداد وأنواع الميكروبات الموجودة علي سطوح الأوراق بعوامل عديدة ، منها نوع النبات و عمرة ، الظروف المناخية مثل حرارة ، مطر ، رياح ، ... الخ ، الفصل من السنة Season ، المعاملة الزراعية. وجد أن باستعمال مواد كيميائية مثلا يؤثر علي الإتزان الميكروبي الموجود علي سطوح الأوراق إما مباشرة بالتأثير علي الميكروبات نفسها أو بطريقة غير مباشرة بإحداث تغيير في فسيولوجيا النبات العائل . وبصفة عامة فإن التأثير علي الميكروبات قد يكون مفيداً كتقليل عدد الميكروبات الممرضة أو ضارا إذا ما أضيفت ميكروبات ممرضة جديدة . كما يتأثر عدد الميكروبات وأنواعها بنوعية المواد المفرزة من الأوراق ، فقد تكون هذه المواد مشجعة

للنمو ، وقد تكون في بعض الأحيان مثبطة مثل مركبات الفينول والأحماض التي تخفض الـ pH وغيرها من المواد . وفي المناطق الممطرة ، فإن أغلب افرازات الأوراق والميكروبات النامية عليها تسقط إلي التربة حيث تزيد من نشاط وكفاءة ميكروبات التربة .

وعموما فإن نمو ميكروبات الفيللوسفير وكذلك ما تحتويه سطوح الأوراق من إفرازات تعتمد علي الظروف المناخية بالمنطقة ، فالحرارة المرتفعة مع توفر الندي كما يحدث في المناطق المدارية تعتبر عاملاً مشجعاً لميكروبات الفيللوسفير في كثير من النباتات . والشكل رقم ٨ يوضح العلاقات التبادلية بين ميكروبات سطح الأوراق والورقة نفسها .

تثبيت النيتروجين في منطقة الفيللوسفير

Nitrogen fixation in phyllosphere

تصل الميكروبات المثبتة لنيتروجين الجو إلي سطح الأوراق من الوسط المحيط بالنبات كالهواء والأتربة وغيرها . وتجد هذه الميكروبات علي الفيللوسفير وسطاً مناسباً لنموها ولتثبيت النيتروجين . ومن المعروف أن أفراد جنس *Phyllobacterium* وهو أحد أجناس عائلة Rhizobiaceae تكون عقداً Foliar nodules علي أوراق بعض النباتات التابعة لعائلة: Rubiaceae & Myrsinaceae . وفى هذه العقد الورقية Foliar nodules تعيش الميكروبات في حالة تكافلية مع تلك النباتات .



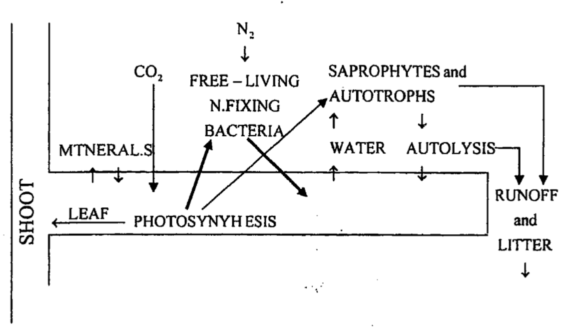


Fig. 8 : Diagrammatic representation of possible interactions between phylloplane microorganisms and leaf

وأغلب هذه النباتات التي يوجد بها العقد الورقية عبارة عن نباتات إستوائية أو شبة أستوائية ، وقد يعود ذلك إلي أن هذه النباتات تمتاز بإحتواء أوراقها علي أعداداً كبيرة من الكائنات الدقيقة الأمر الذي يمهد لقيام علاقات تكافلية بينهما.

وفي النباتات التي تكون عقدا ورقية (بعضها موضح بالجدول رقم ١٢) ، فإنه يعتقد أن البكتيريا الموجودة في الإفرازات اللزجة تدخل الأوراق عن طريق الثغور أو من فتحات خاصة علي حافة الورقة ومنها إلي الخلايا المجاورة التي تنشط وتزداد في الحجم و تكون العقده Nodule . وأغلب هذه البكتيريا (المتكافل الصغير Micro-symbiont) من أنواع عصوية سالبة لجرام متحركة ، وهي تمد النبات ببعض العناصر الغذائية وبعض المواد المنشطة للنمو مثل السيتوكينين ولكن قدرة هذه البكتيريا علي تثبيت

النيتروجين لا تزال موضع نقاش أي لم يثبت بشكل قاطع أنها قادره علي تثبيت النيتروجين .

ومن الأشجار التي عزلت من أسطح أوراقها ميكروبات مثبتة للنيتروجين ما يلي: Fir – Larch – Cyprus – Pine – Oak – Beach – Alder – Sycamore.

وهناك إعتقادا يفتقر إلي مزيد من الأدلة بأن هذه الميكروبات تقوم بتثبيت النيتروجين إلي صورة الأحماض الأمينية (جلوتاميك وأسبارتيك) تستفيد منها الميكروبات المجاورة أو يمتص بواسطة النبات مباشرة أو ينساب إلي الأرض .

جدول رقم ١٢ : بعض النباتات مغطاة البذور التي تتكون بها عقدا بكتيرية علي الأوراق.

Family	Genus	Nodulated sp.
Rubiaceae	*Pavetta*	grandiflora indica *zimmermanniana*
	Psychotria	*calva* *punetala*
Myrsinaceae	*Artemisia*	*crispa*
Dioscoreaceae	*Dioscorea*	*macroura*

والبكتيريا داخل العقد تمر بمراحل متعددة منها العصوي القصير المتحرك ، والعصوي الطويل غير المتحرك ، وطور متعدد الأشكال (باكتيرويد) . ومن البكتيريا المعزولة من العقد الورقية :

Bacillus folliicola, Xanthomonas hortoricola, Klebsiella rubiacearum

ويختلف عدد العقد علي الورقة بإختلاف نوع النبات ، حيث قد يصل عدد العقد علي سطح الورقة في بعض الأنواع إلي ٢٠٠ عقدة .

الفصل الرابع :

التحولات الميكروبية للمركبات الكربونية فى التربة الزراعية

Microbial Transformations of Carbon Compounds in Soil

الفصل الرابع

التحولات الميكروبية للمركبات الكربونية في التربة الزراعية

Microbial Transformations of Carbon Compounds in Soil

تصل المواد العضوية إلي التربة الزراعية من مواد عديدة ، وتعتبر البقايا النباتية سواء من مصادر نباتية أو حيوانية . وهذه الأخيرة تتفاوت في تركيبها كما هو واضح في جدول رقم ١٣.

أما التركيب الكيميائي للبقايا النباتية, وهي المصدر الأساسي للمواء العضوية التي تضاف للتربة فتختلف من نبات لأخر, بل أن هذا التركيب يختلف في النبات الواحد باختلاف العمر . وفي الجدول رقم ١٤ بيان بمفردات التركيب الكيميائي للبقايا النباتية مقارنة بالأسمدة العضوية . Organic manures

وعندما تصل المواد العضوية إلي التربة الزراعية أو تضاف إليها , فانها تتعرض مباشرة للنشاط البيولوجي حيث تقوم الميكروبات بتحليلها للحصول علي الطاقة أو لتمثيل مكوناتها لبناء خلايا ميكروبية جديدة. ومكونات المادة العضوية المضافة لا تتحلل كلها بسرعة واحدة ، فالمواد القابلة للذوبان في الماء أسرعها في التحلل , يليها النشا والسليلوز ثم الهميسيليلوزات , ويعتبر اللجنين أبطؤها في سرعة التحلل . وعادة ما يلاحظ أنة بعد فترة التحلل السريع أن يبطأ معدل التحلل وتختفي الأنسجة النباتية وتتكون مادة عضوية لها صفات جديدة ، حيث يدخل في تركيبها المواد المقاومة للتحلل ونواتج التمثيل الغذائي للميكروبات في تركيب معقد هو الدبال Humus.

Table 13 : Composition of Crude organic Manures and and Composts

Crude Wastes	As a percentage of total dry matter % من المادة الجافة				
	Mineral matter	Organic Matter	N	P_2O_5	K_2O
Farmyard manure	36	64	2.2	1.6	2.0
Raw sludge	49	51	2.4	1.3	0.3
Digested sludge	56	44	2.6	2.2	0.4
Pulverized town refuse	55	45	0.89	0.62	0.43
Fine dust from refuse	76	24	0.48	0.29	—
Sewage sludge-refuse composts	50-55	4s -50	4.0-1.3	0.5-0.6	0.3-0.35

Table 14 : Composition of Organic Matter

Fraction	% In dry weight	
	Plant	Manures
Hot /cold water solubles – sugars, starches, amino acids, aliphatic acids, urea, and ammonium salts.	5 – 30	2 – 20
Ether/ Alcohol Solubles – fats, oils, waxes, and resins.	5 – 15	1 – 3
Proteins	5 - 40	5 – 30
Hemicelluloses	10 – 30	15 – 25
Cellulose	15 – 60	15 – 30
Lignin	5 – 30	10 – 25
Minerals (Ash)	1 - 13	5 – 20

والمادة العضوية الكربونية عندما تتعرض للفعل الميكروبي فإن نسبة كبيرة من هذه المواد الكربونية تتحول إلي CO_2 نتيجة للأكسدة البيولوجية وبذلك يحدث نقص في محتوي التربة من الأكسجين ويزيد محتواها من CO_2 وعلي ذلك ينخفض جهد الأكسدة والاختزال للتربة ويصبح الوسط مختزلا.

وتعتمد سرعة تحلل المادة العضوية في التربة أساساعلي نسبة الكربون إلي النيتروجين C/N ratio فإذا كانت المادة العضوية غنية بالنيتروجين تكون نسبة C/N ضيقة (Narrow C/N) فإن الميكروبات التي تقوم بتحليلها تجد فيها ما يكفيها من النيتروجين لبناء أجسامها وبذلك تكون عملية التحلل نشطه . أما إذا كان العكس أى أن نسبة C/N واسعة (Wide C/N) فإن عملية التحلل تكون بطيئة ، وفي هذه الحالة فإن إضافة مصدر نيتروجيني خارجي يسرع من معدل التحلل. وبالرغم من أن عملية التحلل تكون أسرع في المادة العضوية الغنية بالنيتروجين عن تلك الفقيرة إلا أن معدل الفقد في الكربون في النهاية يكون أقل فيها وكمية الدبال المتكونة تكون أكبر كما هو واضح فى جدول رقم ١٥ .

وتحتوي أجسام الميكروبات في المتوسط على ٥٠ % كربون تستمده من الوسط التي تنمو فيه. وتسمي عملية بناء الكربون فى أجسام الميكروبات بتمثيل الكربون Carbon assimilation وتحت الظروف الهوائية فإن ميكروبات التربة الزراعية عموما تستخدم حوالي ٢٠-٤٠ % من كربون المادة العضوية التي تحللها لبناء أجسامها والباقي يتحول إلي CO_2 أو إلي نواتج ثانوية أخري لعملية التمثيل. وتعتبر الفطريات أكثر كفاءة عن غيرها من الميكروبات فى تمثيل المادة العضوية الكربونية لبناء أجسامها إذ تمثل ٣٠-٤٠ % من كربون المادة العضوية أما البكتيريا الهوائية فتمثل ٥-

١٠% فقط ، في حين تمثل البكتيريا اللاهوائية ٢-٥ % فقط من كربون المادة العضوية حيث أنها أقل كفاءة في إستخدام الغذاء الكربوني.

Table 15 : Some Nitrogen Contents and carbon / Nitrogen Ratios of ompostible Materials

Material	Nitrogen % dry weight basis	C/N ratio
Dried blood	10 – 14	(3 – 4) :1
Urine	15 – 18	0.8 : 1
Hoof and Horn meal	12.0	——
Night soil , Dung	5.5 – 6.5	8 : 1
Bone Meal	4	8 : 1
Brewers wastes	3 - 5	15 :1
Farmyard manure	2.2	14 :1
Water hyacinths	2.2	20 : 1
Pigeon Pea stalks	0.7	70 : 1
Millet stalks	0.7	70 : 1
Wheat straw	0.6	80 : 1
Coconut fiber waste	0.5	300 : 1
Rice straw	0.4	100 : 1
Sugarcane trash	0.3	150 : 1
Fish scrap	6.5 - 10	——
Purslane	4.5	8 : 1
Poultry manure	4.4	——
Young grass clippings	4.0	12 :1
Fresh sewage (dried)	3.5 - 4.0	——
Sheep manure	3.4	——
Amaranthus	3.62	11 :1
Cabbage	3.58	12 : 1
Tomato	3.33	12 : 1
Cow manure	3.1	——
Tobacco	2.99	13 : 1

Onion	2.63	15 : 1
Pepper	2.56	15 : 1
Cocksfoot	2.54	19 ; 1
Lucerne	2.4 – 3.0	(20 – 16) : 1
Sewage sludge(Dried)	2.7	10 : 1
Kentucky bluegrass	2.41	19 : 1
Turnip tops	2.32	19 : 1
Pig manure	2.2	———
Buttercup	2.17	23 : 1
Grass	4.0	20 : 1
Ragwort	2.15	21 : 1
Raw garbage	2.0	25 : 1
Seaweed	1.92	19 : 1
Red clover	1.76	27 : 1
Horse manure	1.7	———
Whole carrot	1.57	27 : 1
Mustard	1.51	26 : 1
Potato tops	1.48	25 : 1
Fern	1.13	43 : 1
Oat straw	1.03	48 : 1
Whole swede turnip	1.0	44 : 1
Flax waste (phormium)	0.97	58 : 1
Timothy	0.86	58 : 1
Browntop	0.86	55 : 1
Wheat straw	0.32	128 : 1
Rotted sawdust	0.35	208 : 1
Raw sawdust	0.11	510 : 1
Paper	nil	infinity

والأرقام السابقة قد يكون لها أهمية خاصة من وجهه نظر تغذية النبات وخصوبة التربة إذ أن الميكروبات عند تمثيلها للكربون الموجود بالمادة العضوية لبناء أجسامها ، لا تبني خلاياها من الكربون فقط ، ولكنها

تحتاج أيضا إلي نيتروجين , فسفور , كبريت , بوتاسيوم وغيرها من العناصر الضرورية لنموها تأخذها من المادة العضوية المتحللة.

فإذا كانت المادة العضوية الخاضعة للتحلل غنية بهذه العناصر فإن الميكروبات القائمة بالتحلل تأخذ منها ما يكفيها والباقي يحدث له "معدنه Mineralization" ، وبذلك يتحول من الصورة العضوية إلي الصورة المعدنية الميسرة للنبات. أما إذا كانت المادة العضوية فقيرة في هذه العناصر , فأن الميكروبات تلجأ إلي العناصر الموجودة في التربة في صورة ميسرة Available form وتأخذها لبناء أجسامها , وبذلك تحولها من الصورة المعدنية إلي الصورة العضوية غير الميسرة للنبات – وتسمي هذه العملية بـ"Immobilization" .

$$
C:N \text{ ratios} \begin{cases} \longrightarrow 5:1 \longrightarrow \text{Bacteria} \\ \longrightarrow 10:1 \longrightarrow \text{Fungi} \\ \longrightarrow 6:1 \longrightarrow \text{Actinomycetes} \end{cases}
$$

وعلي ذلك فإنه أثناء تحلل المادة العضوية , فإن الميكروبات تمثل جزء من محتواها النيتروجيني لبناء أجسامها وما تبقي بعد ذلك يخرج في التربة في صورة أمونيا (NH_3) كناتج أساسي لتحلل البروتين حيث تسمي تلك العملية "النشدرة Ammonification" . وتلعب نسبة الـ C : N دورا رئيسيا في معدنه النيتروجين العضوي فإذا كانت هذه النسبة متسعة Wide فمعني ذلك أن الميكروبات أثناء تحليلها للمادة العضوية وبناء خلاياها لن تجد النيتروجين الكافي للبناء , لذلك فإنها تأخذ كل اليتروجين الموجود في المادة العضوية لبناء أجسامها ولا تحدث معدنة Mineralization . وإذا لم يكفيها فإنها تأخذ النيتروجين الموجود في التربة الزراعية في صورة معدنية (NH_3

أو NO_3^-) – وتسمي هذه العملية أي تحويل النيتروجين المعدني الموجود في التربة إلي نيتروجين عضوي في أجسام الميكروبات بالـ Immobilization وفي هذه الحالة فإن التربة الزراعية تعاني نقصا مؤقتا في النيتروجين الصالح لتغذية النبات . أما إذا كانت الـ C/N ضيقة Narrow أي أن المادة العضوية غنية بالنيتروجين فإن الميكروبات تجد فيها ما يكفيها لبناء خلاياها والباقي يحدث له عملية معدنة إلي أمونيا مما يزيد من كمية النيتروجين الذائب المعدني الصالح للنباتات.

وعادة فإن المواد العضوية الطبيعية تحتوي علي حوالي ٤٠ % كربون. وتعتبر النسبة الحرجة للنيتروجين في مثل هذه المواد ما بين (١,٢-١,٨%) فإذا كانت نسبة النيتروجين في المادة العضوية أقل من هذا المستوي الحرج فإنه تحدث عملية الـ "Immobilization" ، أما إذا كانت مرتفعة عنها – تحدث عملية الـ Mineralization ولتوضيح ذلك :

فإنه من المعروف أن الفطريات عند تحليلها للمواد العضوية فإنها تمثل ما بين ٢٠-٥٠ % بمتوسط قدرة ٣٥% من كربون المادة العضوية في أجسامها والباقي يتحول إلي CO_2 & H_2O أو ويبقي في التربة الزراعية في تركيب "الدبال Humus". والبكتيريا عند تحليلها للمواد العضوية تمثل ١-٣٠% من كربون المادة العضوية (بمتوسط٧%) بداخل أجسامها.

فإذا حرثنا مثلا ١٠٠ كيلو جرام من مادة كربوايدراتيه مثل السليلوز في التربة حيث من المعروف أن السليلوز يحتوي ٤٥ % كربون وعلي إعتبار أن الفطريات هي القائمة بالتحليل فإنها تمثل من هذه الكمية. $35 \times \frac{45}{100} = 15.75$ كيلو جرام كربون. وكمية النيتروجين اللازمة لبناء

خلايا هذه الميكروبات الفطرية $x15.75\frac{1}{10}=1.575$ كيلو جرام . أي أن تحلل ١٠٠ كيلو جرام سليلوز خال من النيتروجين طبعاً بواسطة الفطريات يؤدي إلي تمثيل "Immobilization" لـ 1.575 كيلو جرام من النيتروجين المعدني الموجود بالتربة الزراعية .

أما إذا حرثنا في التربة الزراعية ١٠٠ كيلو جرلم برسيم حيث به٤٠% كربون , ٢,٥% نيتروجين فإننا نجد أن الفطر بإعتبارة هو القائم بالتحلل مثلا يمثل من كربون المادة المضافة ما يساوي $x35\frac{40}{100}=14$ كيلو جرام كربون. وهذه الكمية من الكربون الممثل في أجساد الفطريات يلزمها $x14\frac{1}{10}=1.4$ كيلو جرام نيتروجين. وبما أن المادة العضوية المضافة للتربة الزراعية مثل البرسيم تحتوي علي ٢,٥ كيلو جرام نيتروجين فإنة تحدث معدنة Mineralization لـ ١,١(٢,٥-١,٤) كيلو جرام نيتروجين. ومن المعروف أن النقص في النيتروجين المعدني في التربة الزراعية نتيجه عملية "Immobilization" عبارة عن نقص مؤقت حيث أن الميكروبات لا تلبث أن تموت وتتحلل ، ولذلك فإنة عند إستخدام مادة عضوية فقيرة في النيتروجين , فإنه يجب إضافتها للتربة قبل الزراعة بفترة كافية حتي لا تعاني النباتات النامية نقصا في النيتروجين الميسر Available nitrogen .

تحلل المواد العضوية الكربونية المختلفة في التربة الزراعية :

Degradation of different carbon compounds in soil

بعد إضافة المواد العضوية مباشرة إلي التربة , فإن أول المركبات التي تدخل في التفاعلات الحيوية في التربة هي المواد الذائبة في الماء حيث تستخدمها ميكروبات التربة بسرعة كبيرة . وتتضمن المواد الكربونية الذائبة في البقايا النباتية – السكريات والأحماض العضوية أساسا. والميكروبات بطبيعة الحال تستهلكها للحصول علي الطاقة وبناء الخلايا الجديدة, نادرا ما تحتوي علي كميات كبيرة من السكريات والأحماض العضوية السهلة الذوبان. وهذه المركبات العضوية البسيطة مثلها , مثل غيرها من مركبات الكربون تحلل هوائيا إلي CO_2 & H_2O كناتج نهائي ، أما تحت الظروف اللاهوائية فإن عمليات الأكسدة لا تكون كاملة , لذلك فإن السكريات ستتحول إلى أحماض عضوية وكحولات وألدهيدات وكيتونات وغازات مثل الميثان والأيدروجين و CO_2 وغيرها. وبعد اختفاء المواد السهلة التحلل تقوم الميكروبات المختلفة بتحليل المواد الكربوايدراتية المعقدة الموجودة في البقايا النباتية. ويختلف معدل تحللها حسب مدي تعقيد المركب ونوع الروابط الكيمائية التي توجد بين الوحدات البنائيه للمركب ، ومدى وجود الميكروبات المتخصصه في التحلل وعلى أية حال , فإن التحلل يتم أولا بإفراز إنزيمات خارج الخلايا Extracellula enzymes تحلل المواد الكربوايدراتيه المعقده الى مكوناتها الاوليه البسيطه ، ثم بعد ذلك تستخدمها الميكروبات للبناء الخلوي ومصدرا للطاقه وجزء منها يدخل في بناء مواد معقده أخري بالتربة أو يدخل في تركيب "الدبال Humus" . والناتج النهائي للتحلل لمختلف أنواع الكربوايدرات تحت الظروف الهوائيه هو H_2O & CO_2 ولكن تحت الظروف اللاهوائيه تكون النواتج هي أحماض عضويه ، كحولات ،

ألدهيدات ، كيتونات وغازات . وسوف نتعرض فيما يلي لتحلل النشا ، السليلوز ، والبكتين – كأمثله فقط .

تحلل النشا Starch Hydrolysis

النشا من الناحية الكيميائية عبارة عن مركب معقد (عديد الجلوكوز) ويوجد منة طرازان آميلوز Amylose (AmI) مكون من سلاسل مستقيمة من الجلوكوز مرتبطة مع بعضها برابطة جليوسيدية من النوع α-1,4 glycosidic linkage وآميلويكتين Amylopectin(& AMII Fig.9) يحتوي علاوة علي السلاسل المستقيمة المشابهة للأميلوز ، علي سلاسل متفرعة ، والرابطة عند التفرع تكون من النوع Glycosidic α-1,6 – Linkage

Fig. 9 : Structural formula of amylose, Amylose (AmI)

وكما هو واضح فإن جزيئات الأميلوز تكون طويلة، غير متفرعة في سلاسلها التي تتكون من وحدات α –D-glucopyranose يتراوح عددها في السلسلةما بين ١٠٠ إلي عدة آلاف تتصل كل وحدة بأخري في السلسلة برابطة من الطراز glycosidic bond $\alpha 1 \longrightarrow 4$.

أما الأميلويكتين كما يتضح من الرمز فى شكل رقم ١٠ فإن لجزيئاتـــة تراكيب متفرعة تفرعا شديدا مثل الشجرة (شكل رقم ١١) حيث تحتوي علي ما قد يصل إلي ٥٠,٠٠٠ وحدة α - D - Glucopyranose والتـــي تـــرتبط دائمـــا ببعضـها برابطة من نوع $\alpha 1 \longrightarrow 4$ glycosidic linkage أما الرابطـــة عنـــد مكان التفرع فتكون من نوع $\alpha 1 \longrightarrow 6$ glycosidic linkage.

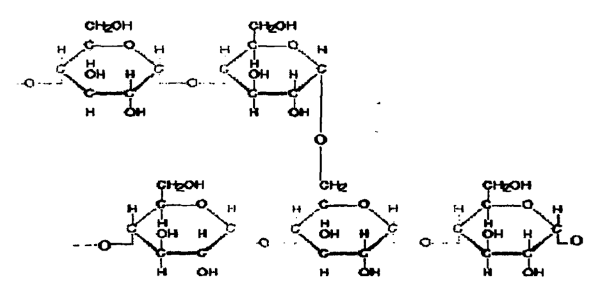
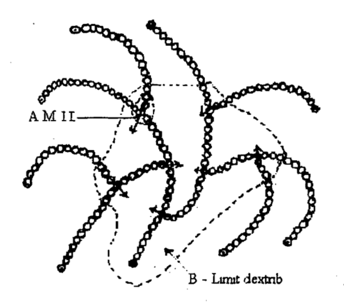


Fig. 10 : Section of amylopectin molecule (AmII)

وعملية تحلل النشا في المادة العضوية عملية هامة حيـــث أن النشـــا واسع الإنتشار في البقايا النباتية ، وعادة ما يوجد فيها بنسبة كبيرة، لذلك فإنة يعتبر مصدرا جيدا للطاقة بالنسبة للميكروبات المختلفة – سواء تلك القـــادرة علي تحليلة أو غير القادرة ، وهذه الأخيرة تستفيد منه بطريقة غير مباشرة – حيث تستفيد من السكريات التي تتكون نتيجة لتحليل جزيء النشـــا المعقـــد بواسطة الميكروبات القادرة علي تحليلة.



⊙ = reducing end i.e.

$R-O-$ (CH_2OH, H, O, H, OH, H, OH, H, OH)

• = non-reducing end i.e.

(CH_2OH, H, O, H, OH, H, OH, H, OH) $-O-R-$

⊙ = α - 1,4 – gucosidic linkage

• = α - 1,6 – glucosidic linkage

β – Limit dextrin = residue remaing after B – amylase – catalysed hydrolysis of amylopectin.

AMII = segment of amylopectin show in moleculas structuse AMII.

Fig. 11 : Simplified, two dimenroional structural representation of amylopectin.

ويعتبر النشا من أسرع المواد الكربوايدراتية تحللا ، فهو يلي السكريات البسيطة في سرعة التحلل ، لذلك فإنة يختفي من المادة العضوية بعد فترة قليلة من إضافتها للتربة. وأعداد الميكروبات المحللة للنشا تكون أكثر كثيرا من تلك القادرة علي تحليل غيرة من المركبات الكربوايدراتية المعقدة Polysaccharides الأخري. والميكروبات القادرة علي تحليل النشا Amylolytic microorganisms تشمل : البكتيريا ، الفطريات والأكتينومايستات . ونسبة كبيرة من ميكروبات التربة تعتبر قادرة علي تحليل النشا .

ولقد قدر أن ٥٠ – ٨٠% من مستعمرات Colonies البكتيريا والأكتينومايستات النامية علي الأطباق عند عد الميكروبات تعتبر قادرة علي تحليل النشا . وتحتوي التربة الخصبة في المتوسط علي (10^6– 10^7) خلية بكتيرية /١جم من التربة – من ميكروبات تحليل النشا .

والبكتيريا المحللة للنشا قد تكون هوائية أو لاهوائية – كما أن منها المتجرثم وغير المتجرثم وكذا السالب لجرام والموجب لجرام – ومنها ما يتتبع الأجناس الآتية: *Cytophaga, Clostridium, Bacillus, Micrococcus, Flavobacterium, Chromobacterum.* ومن الأكتينومايستات ما يتبع الأجناس *Micromonospora, Streptomyces* ومن الفطريات ما يتبع الأجناس *Fusarium, Rhizopus, Aspergillus.*

والميكروبات المحللة للنشا تفرز مجموعة أنزيمات خارجية ، منها:

١ – α – amylase : وهو القادر علي تكسير الروابط في السلاسل المستقيمة لكل من الآميلوز والآميلوبكتين ، بطريقة عشوائية لكنة غير قادر

علي تكسير الروابط المتفرعة وبذلك ينتج عن فعل هذا الأنزيم علـــي النشـــا مجموعة من البكتريا وقليل من السكريات المختزلة Reducing sugars .

٢ – β – amylase : ينشط التحلل من نهاية الجزيء تدريجيا ، ويكون التكسير عند الرابطة الثانية بين وحدات انجلوكوز فـــي الجـــزيء ليعطـــي وحدات من السكر الثنائي (مالتوز) علاوة علي نسبة من الدكسترينات . وكلا الانزيمين α – amylase، β -amylase غير قـــادر علـــي تكسـير الرابطـــة α - 1,6 gycosidic bond في جزيء الأميلويكتين – وبذلك فـــإن كميـــات الدكسترين التي تتكون يجري تحللها بواسطة أنزيمات أخري – أما المالتوز المتكون فإنه يتحلل بواسطة إنزيم maltase (α – 1,4 glucosidase) إلـــي جلوكوز .

وبالأضافة إلي هذه الإنزيمات ، فإن بعض الميكروبات المحللة للنشا تفرز أنزيم gamma amylase (Glucoamylase) هو الذي يفصل وحـــدات الجلوكوز من نهاية جزيء النشا. والجلوكوز الناتج من التحلـــل البيولـــوجي للنشا إما أن يتأكسد هوائيا إلي H_2O & CO_2 أو لا هوائيا (تخمريـــا) إلـــي أحماض عضوية وكولات وغازات.

تحلل السليلوز Cellulose Decomposition

يمثل السليلوز ١٥ – ٦٠% من تركيب البقايا النباتية. وعادة ما تكون نسبتة أعلي في أواخر عمر النبات عن الأعمار الصغيرة، وعلي ذلك فـــإن السليلوز يمثل أحد المركبات الهامه التي تستخدمها الميكروبـــات كمصـــدر للكربون والطاقة من البقايا النباتية وهو يلي السكريات البسيطة والنشا فـــي سرعة التحلل . والسليلوز من الناحية الكيميائية عبارة عن مادة كربوايدراتية معقدة تتركب من وحدات من الجلوكـــوز (Polymer of glucose) وتـــرتبط

الوحدات مع بعضها برابطة β −1,4 −glycosidic Linkage (B 1,4glucan) كما هو واضح من شكل رقم ١٢ . وعدد وحدات الجلوكوز في السلسلة المكونة لجزيء السليلوز تختلف من نبات لآخر ، عموما فإنها تتراوح ما بين 1400-10.000 وحدة ، لذلك فإن الوزن الجزيئي للسليلوز كبير جدا إذ يتراوح بين $200.000-2.4 \times 10^6$. والسليلوز في الطبيعة لا يوجد علي شكل سلاسل بسيطة ، وإنما توجد هذه السلاسل متحدة في وحدات دقيقة جدا تسمي Micelles وهذه بدورها تترتب بشكل خاص في تراكيب أكبر تسمي "Microfibrils" − وهذه الوحدات بدورها تترسب في الجدار الخلوي ويوجد بينها عادة مادة اللجنين مع السكريات المعقدة الأخري بنسب أقل.

ونظرا لأن التركيب الكيميائي للسليلوز عبارة عن وحدات ذات رابطة من نوع بيتا β ، فإن عملية التحلل تتم بواسطة ميكروبات متخصصة قادرة علي إفراز أنزيمات تستطيع كسر الرابطة β −1,4 - glycosidic bond .

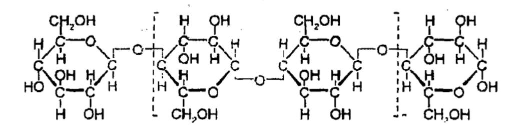


Fig. 12 : Structure of the cellulose molecule

ولقد ثبت أن الميكروبات القادرة علي تحليل المركبات ذات الرابطة α − 1,4 −glycosidic linkage مثل تلك الموجودة في النشا تكون أكثر عددا وتنوعا من الميكروبات القادرة علي تحليل المركبات ذات الرابطة B −1,4 −glycosidic bond وهي الموجودة في جزيئات السليلوز.

والتحليل الإنزيمي للسليلوز يعتبر عملية معقدة تتطلب إعمال ثلاثة على الأقل من الأنشطة الأنزيمية تشمل:

١ – exo - β – 1.4 - glucanase أو ما يعرف بـ C_1

٢ – endo - β - 1.4 - glucanase أو ما يعرف بـ C_x

٣ – β - glucosidase .

ففي تحليل السليلوز الطبيعي Native or crystalline cellulose لابد أن يعمل النظامين الإنزيمين Exo - and endoglucanase معاً بتعاون Synergistically حتي يتم تكوين السيلوبيور Cellobiose والاخير يتحلل الي جلوكوز بفعل النظام β - glucosidase (شكل رقم ١٣) .

شكل رقم ١٣ : مكان فعل إنزيمات تحليل السليلوز

ولقد ثبت فعلا وجود تأثير تنشيطي Synergistic effect قوي فيما بين عملي Exo - and endoglucanase أثناء تحليل السيليلوز البللوري (Avicel) crysttaline cellulose بينما يلاحظ ذلك التعاون التنشيطي عند تحليل Acid swollen cellulose . كما لوحظ أن أنزيمات β- Glucosidases تحليل السليلوز والسلاسل القصيرة من طراز Cello - short - chain oligosaccharides إلي جلوكوز ، ولكنه لا تقوي علي التأثير علي السليلوز.

ولقد كان يعتقد أن الـ C_1 هو إنزيم غير محلل مائيا Nonhlydrohytic يقع علية عبء بدء عملية التحليل المائي للسليلوز الطبيعي Native من خلال قيامة بتكسير الروابط الأيدروجينية Hydrogen bonds فيما بين سلاسل السليلوز . وهذه تعد خطوة حتمية لابد أن تسبق الفعل التحللي للسليلوز بواسطة أنزيمات C_x وهي المحللة مائيا. وعلي ذلك فسرت عدم قدرة الميكروبات التي لا تنمو علي السليلوز الطبيعي Native يعجزها عن تخليق أنزيم الـ C_1. ولقد ثبت أن الـ C_1 في حالة *T. Koningii, Trichoderma viride* عبارة عن Cellobiohydrolase وفي جدول رقم ١٦ عرضا لصفات إنزيمات السليلوز

ولقد ثبت حديثا أن الـ Exoglucanase يقوم بتنشيط فصل جزئيات سليلوز Cellosiose من النهاية غير المختزلة لسلسلة السليلوز ، ومن ثم يطلق علية من الناحية التقسيمية أسم β - 1,4 - glucan cellobiohydrolase (E.C.3.2.1.-) أما الـ Endoglucanases فتحلل مائيا مركبات β-1,4 - glucans بطريقة عشوائية وتسمي من الناحية التقسيمية باسم β – 1,4 – glucan glucanohydolase (E.C.3.2.1.4) وكل الميكروبات المحللة

للسليلوز الطبيعي لابد وأنها تمتلك علي الأقل واحد من أنظمة الـ Exo – β – glucanase والذي هو عبارة عن β – 1,4 – glucan cellobiohydrolase في حالة (*T. viride, T. koningii, Sporotricham pulverulentum,*)

Table 16 : Some properties of cellulolytic enzymes isolated from *Trichoderma viride*

Type of Enzyme	Molecular weight	Isoelectric Point	carbohydrate Content (per cent)	Activity toward different substrates			
				CMC	microcrystalline Cellulose	Reprecipit ated celluose	Cello-tetraose
Exo-β-1,4-glucanase	42000	3.79	9	—	+	+	+
Endo-β-1,4-glucanaseI	12500	4.60	21	+	—	+	+
Endo-β-1,4-glucanaseII	50000	3.39	12	+	—	+	+
B-Glucosidase	47000	5.74	0.0	—	—	—	+

ولقد أجريت دراسات مستفيضة علي فصل البروتينات الإنزيمية الخاصة بنظم تحليل السليلوز وأعيدت عمليات خلطها معا بقصد معرفة الخصائص التنشيطية Synergistic properties فيما بينها والنتائج مبينة في الجدول رقم ١٧.

Table 17 : Relative cellulose activities of the components of Trichoderma koningii cellulose alone and in combination

Enzyme	Relative cellulose activity %
C_1	< 1
Cx(1)	< 1
Cx(2)	< 1
B-Glucosidase (1)	0
B-Glucosidase (2)	0
C_1+ Cx(1) + Cx(2)	24
C_1+ B-Glucosidase(1+2)	5
C_1+ Cx(1+2)+ B-Glycosidase(1+2)	103
20 – 80 %sat. $(NH_4)_2$ SO_4 Fraction	100

وفي دراسة أخري علي مكونات النظام الإنزيمي المحلل للسليلوز أجريت علي سائل الزرع Cultural solution ثبت أن المحلول المركز غير المجزأ قد أحدث تحللا للقطن المزال منه الشمع De- waxed cotton قدرة ٥٢,١% علي حين أن المحلول المعاد تركيبة من شقية المجزأين Exo & endoglucanases حلل فقط قدرة 20% كما هو واضح في جدول رقم ١٨ علي الرغم من أن المحلول المعاد تركيبة Reconstituted solution كان يحتوي نفس الكميات بالضبط من كل من Endo - and exoglucanases مثل محلول الزرع الأصلي Original cultural solution .

ومن ثم يتأكد أن هناك نظاما أنزيميا آخر غير الـ Endo - exoglucanases موجودا في سائل الزرع وغير موجود في السائل

المعاد تركيبة ، وأن هذا يعد ضروريا لعمليـــة تحليـــل الســـليلوز الطبيعـــي Crystalline cellulose .

Table 18 : Degradtion of cotton cellulose by enzymes from *Sporotrichum pulverulentum.*

Enzyme Preparation	Cellulose degradation weight loss (%)
Concentrated cultural solution	52.1(oxygen atmosphere)
Concentrated cultural solution	21.5(nitrogen atmosphere)
Mixture of endo – and exoglucanases	20.0
Endo – β – 1,4 – glucanase	0.0
Exo – β – 1,4 – glucanase	0.0

وعندما تم تحضين محلول الزرع في جو من النيتروجين بدلا مـــن الهواء ، وجد إن درجة تحلل السليلوز أنخفضت إلـــي 21.5% بـــدلا مـــن 52.1% في حالة محلول الزرع المركز . ولقد إستنتج من ذلـــك أن هنـــاك إنزيما إضافيا مؤكسدا له دور في عملية تحليل السليلوز وثبت أن هذا الأنزيم يوجد في محاليل الـــزرع Cultural solutions لفطريـــات أخـــري محللـــة للسليلوز (جدول رقم ١٩).

علي أية حال ربما كان واضحا أن تحليل السليلوز تعد عملية معقدة في خطواتها لكن الشيء الثابت بوضوح هو الفعل التنشـــيطي Synergistic effect فيما بين الـــ Eexo - and endo glucanases وفوق ذلك ، فلابد مَن وجود β-glucosidase للتخلص من السلوبيوز من وسط التفاعل الأنزيمـــي والا أدى تراكمه إلي تثبيط عمل الـــ Exoglucanase . وهناك تصور عـــام لفعل أنزيمات تحليل السليلوز (شكل رقم ١٤) ربما يزيد فهم هـــذا النظـــام

المعقد. والإنزيم المشار له في الشـكل بـالرمز X (Unnamed enzyme) عبارة عن نظام إنزيمي خارجي Extracellular يفصل اللجين عن السليلوز.

Table 19 : Degradation of cotton cellulose by cell – free, concentrated cultural solution of four different cellulose – degrading fungi in presence and absence of oxygen

Organism	Cellulose degradation (weight loss %)	
	O_2-atmosphere	N_2-atmosphere
Sporotrichum pulverulentum	52.1	21. 5
Polyporus adustus	42.6	18.0
Myrothecium verrucaria	33.6	17.0
Trichoderma viride	20.0	10.0

ومن هنا فقد وجد أن بعض الفطريات مثل *Polyporus versicolor* لها المقدرة علي تحليل السليلوز المرتبط باللجنين Lignocellulose . وفسّر ذلك علي أساس أن هذه الميكروبات تفرز بالإضافة إلـى أنزيمـات تحليـل السليلوز Cellulases المشار لها ؛ أيضا نظام أنزيمي آخر رمز له بالحرف X ووظيفتة هي فصل اللجين عن السليلوز.

ومن المعروف أن الميكروبات اللاهوائية لا تستطيع القيام بالأكسـدة الكاملة Complete oxidation للمركبات العضوية ، كـذلك فـإن النـواتج النهائية لتحليلها للسليلوز تشمل عديدا من المركبات غير كاملـة الأكسـدة ، حيث تتراكم كميات كبيرة من الأحماض العضوية مثل :Succinic , Acetic Lactic , Formic , Butyric, وغيرها . كما تتراكم عديد مـن الكحـولات

والغازات مثل H_2; CO_2. CH_4; والميثان الذي يتكون أثناء التحليل اللاهوائي للسليلوز لا ينتج كنتيجة مباشرة للتحلل ، ولكنة يتكـون خـلال الأحمـاض العضوية المتكونة بفعل التخمر الميثاني ألي ميثان بواسطة ميكروبات أخري خلاف المحللة للسليلوز حيث ثبت أن المـزارع النقيـة مـن الميكروبـات اللاهوائية المحللة للسليلوز لا تكون فيها الميثان أبدا.

Extracellular Reaction		Intracellular Reactions
Natural Celluloses: Wood & other Ligoncellulosic Materials "x"	*Modified Celluloses:* Wood pulp	B- Glucosidae ↓
C_1 **Native** **Cellulose as in** **Cotton**	Linearunhydro — $\xrightarrow{C_X}$ Gluco chains C_{XA} C_{XB} C_{XC} etc Regenerated or Substituted Cellulose Derivatives	*cellobiose* ↔ *Glu*cose

شكل رقم ١٤ : تصور عام لفعل نظم تحليل السليلوز

وتلعب البكتريا اللاهوائية المحللة للسليلوز دورا هاما في قاع البرك والمستنقعات وفي كرش الحيوانات المجترة وفي نتاج المركبـات الوسـطية اللازمة لإنتاج غاز البيوجاز Biogas.

ولقد ثبت أن هناك عوامل كثيرة تؤثر في معدل تحلل السليلوز حيث لوحظ أن السليلوز النقي يصعب علي كثير من الميكروبات تحليلة ، وأنة في حاله تواجد شوائب معة فانها تسرع من عملية التحلل. وبالتالي فإن معـدل

تحلل السليلوز الموجود في البقايا النباتية يكون سـريعا جـداً فـي التربـة الزراعية أو الأوساط الغذائية مقارنة بتحلل السليلوز النقي. كما تلعب درجة الرطوبة في الأرض ؛إضافة مصدر نيتروجيني للبقايا الفقيرة في محتواهـا النيتروجيني ؛ درجة الحرارة دوراً هاما في سرعة تحلل السليلوز في التربة. وكذلك فإن درجة الـ pH للتربة لها أثرا فعالا جدا في ذلك.

وتشمل محللات السليلوز الميكروبية أربعة مجموعات . كما يلي:

١- بكتيريا هوائية تتبع للأجناس:

Pseudomonas, Sporocytophaga, Bacillus, Cytophaga

٢ - بكتيريا لا هوائية تتبع للجنس : *Clostridium* مثل

Cl. dissolvens وهو ميزوفيللي *mesophile*

Cl. thermocellum وهو نزموفيللي *thermophile*

٣ – أكتينومايستات تتبع الأجناس:

Micromonospora, Thermoactinomyces, Thermomonospora, Nocardia, Streptomyces.

٤ - فطريات تتبع الأجناس :

Myrothecium, Sporotrichum, Alternaria, Fusarium, Penicillium, Aspergillus, Chaetomium, Trichoderm

وعلي أية حال فإن إحتياجات هذه المجموعات الميكروبية من حرارة وتهوية وpH تختلف وتتفاوت فيما بينها ومن هنا تختلف أدوارها فـي كـل حالة. ويتم تحليل السليلوز لاهوائيا في معدة الحيوانات المجترة ruminants بواسطة البكتيريا اللاهوائية المحللة للسليلوز مثل:

Ruminococcus Flavofaciens; Clostridium spp; R.albus; Butyrivibrio, Fabrisolvens; B.ruminicola ; Bacteroides succinogenes

وهي من بكتيريا الكرش غالبا , والنواتج النهائية للتحلل هي أمـــلاح الأحمـــــاض Succinic , Butyric, Propionic , Acetic وغــــازات CO_2 70% – 50 , CH_4 % 50 – 30 وقليلا من الأيدروجين .

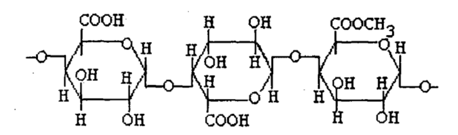
تحلل المواد البكتينية Degradation of Pectic Substances

المواد البكتينية عبارة عن مواد لاحمة تربط الخلايا النباتية ببعضها حيث أنها تكون الصفيحة الوسطي Middle lamella بين جدر الخلايا . لذلك فإن تحللها واستخدامها كمصدر للكربون والطاقة للميكروبـــات يســـاعد علي تفكك الخلايا النباتية عن بعضها مما يسهل تحللها. وعلي ذلك فإن تحلل البكتين يعتبر أمرا هاما في تحلل البقايا العضوية المضافة للتربة الزراعيـــة كما أن تحلل المواد البكتينية له أهمية كبيرة في صـــناعه تعطـــين Retting نباتات الألياف مثل التيل والكتان والجوت وحطب القطن وسيقان الكركديـــة والملوخية, حيث تعمل الإنزيمات البكتيرية علي تحليـــل المـــواد البكتينيـــة المكونة للصحيفة الوسطي التي تربط أنسجة الألياف فتتفكك وبـــذلك يســـهل فصل الألياف السليلوزية عن باقي الأنسجة النباتية , حيـــث تســـتخدم هـــذه الألياف بعد ذلك في صناعة النسيج أو في صناعة الحبال أو غيرهـــا مـــن الصـــناعات . كمـــا أن القـــدرة علـــي إحـــداث الأمـــراض للنباتـــات Phytopathogenicity بواسطة بعض الميكروبات الممرضة وأيضا تحلـــل وتعفن كثيرا من الخضروات والفاكهة يرتبط إلي حد كبير بتحلل البكتينـــي. فمرض العفن الطري Soft rot الذي يصيب كثيرا مـــن النباتـــات الدرنيـــة كالبطاطس والجزر ويصيب أيضا الخيار واللفت وغيرهـــا والـــذي يســـبب خسائر كبيرة في الخضروات والفاكهة المخزنة يسببة بعض أنواع البكتيريـــا المفرزة الإنزيمات المحللـــة للمـــواد البكتينيـــة , ومـــن أهمهـــا ميكـــروب

Erwinia carotovora حيث يؤدي نمو هذا الميكروب داخل درنات البطاطس إلي تفكك الخلايا داخل الدرنة ثم تموت هذه الخلايا وتتحلل الدرنة ويخرج الميكروب ليغزو درنات جديدة... وهكذا.

كما أن هناك اعتقادا بوجود علاقة إيجابية بين قدرة الفطريات المسببة لأمراض الذبول Wilting علي إفراز الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية وقدرتها علي إحداث أمراض الذبول في النباتات المختلفة.

أما من ناحية كيمياء المواد البكتينية ، فهي تعتبر قسما من أقسام المواد الهيمسليليوزية ، وتركيبها الكميائي عبارة عن سلاسل من وحدات حمض الجلكتيورونيك Galacturonic acid مرتبطة كلية أو جزئيا بروابط أستر مع مجاميع الميثايل Methyl ester – ومجاميع الكربوكسيل غير المرتبطة بروابط الإستر قد تكون متحدة كلية أو جذئيا مع كاثيونات مختلفة مثل Ca^{++},Mg^{++} ويمكن تمثيل حمض الجلكتيورونيك في حمض البكتيك كما في الشكل رقم ١٥ .



شكل رقم ١٥ : وحدات حمض الجاكتيورونيك في جزئ حمض البكتيك

وتشمل المركبات البكتينية ثلاثة مكونات رئيسية هي:

أ. بروتوبكتين Protopectin: وهو الجزء غير القابل للذوبان في الماء من المركبات البكتينية، وهو يتكون من وحدات من حمض الجلكتيورونيك Polymer of galacturonic acid محتوية علي مجاميع الإستر.

ب. بكتين Pectin: ويشبة المكون السابق في تركيبة الكميائي إلا أنه قابل للــذوبان في الماء ، ونسبة مجاميع الإستر به حوالي 8 %

ج. حمض Pectic acid: وهو عبارة عن وحدات من حمــض الجلكتيورونيــك خال من مجاميع الإستر ، وهو قابل للذوبان في الماء. وحمض البكتيك يتميــز بأنه يكون Pectic gel عند معاملتة بالكالسيوم ، ويمكن أنتاج حمض البكتيــك من المواد البكتينية السابقة بمعاملتها بقلوي مخفف مما يؤدي إلي تحلل مجاميع الأستر وانفراد مجاميع الكربوكسيل في سلاسل حمض الجلكتيورونيك .

وتستطيع كثير من أنــواع أجنــاس البكتيريــا والأكتينومايســيتات والفطريات تحليل المواد البكتينية في التربة وأستخدامها كمصادر للكربــون والطاقة ، لذلك فإن المواد البكتينية تكون سريعة التحلل في التربة . وتصــل أعداد هذه الميكروبات إلي $10^5 - 10^6$ /جم تربة ، وتزيد أعدادها في منطقة الجذور عن ذلك كثيرا فتصل إلي 10^7/ جم . وعادة يتم تحلل المواد البكتينية في الظروف المتعادلة والمائلة إلي قلوية بواسطة البكتيريا والأكتينوميسيتات أما في الظروف الحمضية فإن الفطريات تكون هي النشطة فــي التحليــل. والإنزيمات المحللة للمواد البكتينية والتي يطلــق عليهــا كمجموعــة إســم Pectinases تضم مجموعتين رئيســيتين وهمــا Saponifying enzymes ، Depolymerizing enzymes

حيث تقوم أفراد المجموعة الأولي بتحليل روابط الأستر بين مجاميع الكربوكسيل و المثيل و ينتج عن التحلل أنفراد الميثانول CH_3OH وظهــور مجاميع الكربوكسيل الحمضية في الجزيء ويتضح من هذا أن الأثر العــام لهذه الأنزيمات علي جزيء البكتين محدود نظراً لأنة ليس لها أثــر علــي السلسلة الجليكوسيدية . أما أفراد المجموعة الثانية فتقــوم بتقســيم جــزيء البكتين الكبير إلي وحدات أصغر إما عن طريقة التحليل المــائي للــروابط

الجليكوسيدية Hydrolytic enzymes أو عـن طريـق الإزالـه الإنتقاليـة Lyases or trans- eliminative cleavage) Trans-elimination enzymes) والتى تحدث تفككا للروابط الجليكوسيدية في الجزيء . ويمكـن حصر وتقسيم الإنزيمات المحللة للمواد البكتينية كالآتى :

Classification of Pectinolytic enzymes

A: Esterase

Pectin esterase,"PMGE", EC 3.1.1.11, de-esterifies pectin to pectic acid by removal of methoxyl residues.

(S.n): Pectin pectylhydrolase

(R.n): polymethylgalacturonate esterase

B: Depolymerases

1 – Acting on pectin:

1.1 Polymethylgalacturonase "PMG"

1.1.1. Endo – PMG Hydrolyses pectin in a random fashion.
(R.n): Endo polymethyl gala cturonase

1.1.2. Exo – PMG hydrolyses pectin in a sequential fashion.
(R.n.): Exopolymethyl galacturonase

1.2: Poymethyl galacturonate lyase "PMGL"

1.2.1. Endo – PMGL,EC4.2.2.10,causes random cleavage in pectin by a transelimination process.
(R.n.): Endopoly methylagal cturonate lyase (endopectin lyase).

1.2.2. Exo – PMGL causes sequential cleavage in pectin by a transelimination process.

(R.n.): Exopolymethyl galacturonate lyase (exopectin lyase)

2 – Acting on pectic acid (polygalacturonic acid):

2.1 Polygalacturonase (PG)

2.1.1. Endo – PG,EC 3.2.1.15 , hydrolyses pectic acid in a random fashion.
(R.n.): Endopolygalacturonase

2.1.2. Exo – PG –1, EC 3.2.1.67, hydrolyses pectic acid releasing D-galacturonate; i..e,. hydrolyses successive bonds.
(R.n.): Exopolygalacturonase.

2.1.3. Exo – PG-2, Ec3.2.1.82, hydrolyses pectic acid from non-reducing end releasing digalacturonate; i.e., hydrolyses alternate bonds.
(R.n.): Exopolydigale cturonase.

2.2 : Polygalacturonate lyase (PGL)

2.2.1. Endo – PGL, EC 4.2.2.2., causes random cleavage in pectic acid by a transelimination process.
(R.n.): Endopolygalacturonate lyase (endopectate lyase)

2.2.2. Exo – PGL, EC 4.22.9, causes sequential cleavage in pectic acid by a transelimination process.
(R.n.): Exopolygalacturonate lyase (exopectate lyase)

3 -Acting on oligo – D – galactosiduronates:

3.1 : Oligogalacturonase-(OG)

OG hydrolyses oligo – D – galactosiduronate
(R.n.): Oligogalacturonase

3.2 : Oligogalacturonate lyase (OGL)

OGL, EC 4.2.2.6, causes cleavage of oligo – D-galactosiduronate by a transelimination process.

(R.n.): Oligogalacturonate lyase

N.B: All depolymerizing pectic enzymes produce reducing groups on substrate hydrolysis.

وعلي ذلك يمكن تلخيص الفعل الأنزيمي في صوره معادلات كما يلي:

$$\text{Protopectin} \xrightarrow{\text{PME}} \text{Pectin + pectic actd} \xrightarrow{\text{PMG}} \text{galacturonic acid}$$

$$\text{Pectic acid} \xrightarrow{\text{PG}} \text{galac' ronic acid}$$

$$\text{Pectinor pecticacid} \xrightarrow{\text{Lyases}} \text{productsfromgalacturonic acid}$$

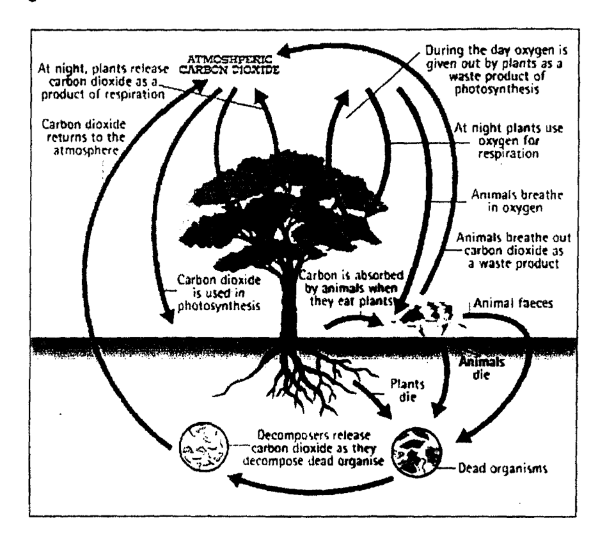
أما جدول رقم ٢٠ فيوضح مصادر أنزيمات تحليل المركبات البكتينية من مختلف الكائنات المختلفة فطرية أو بكتيرية.

ويختلف محتوي المواد البكتينية من الميثوكسيل تبعا لمصدرها وأنواعها ، وفي حالة الفاكهة يتفاوت هذا المحتوي بتقدم العمر وبدرجة النضج . وتجدر الإشارة ثانيا إلي أن أنزيمات الأستيريز تغير صورة الجزيء دون تغير درجة البلمرة . وعموما ، فإن أنزيمات تحليل المواد البكتينية تعتبر من الأهمية بمكان في أعطاء القوام للفاكهة والخضروات . أما إنزيمات اللايبز فتعمل على بلمرة الجزئ دون ما تأثر على درجة الأسترة وتعزي التغيرات في القوام أثناء التخزين بعد الحصاد إلي التغيير الحادث في المواد البكتينية والذي يحدث بواسطة أنزيمات تحليل البكتين فى الطبيعة . وهذه الإنزيمات الطبيعية جنبا إلى جنب مع إنزيمات تحليل البكتين من الميكروبات يجب أن تكون موضع اعتبار في تكنولوجيا منتجات الفاكهة والخضر – علاوة علي أدوارها في ميكروبيولوجيا التربة الزراعية ويبين

شكل رقم ١٦ التحولات الميكروبيولوجية للمركبات الكربونية فـــى التربـــة الزراعية.

جدول رقم ٢٠ : بيان ببعض الأجناس الميكروبية وما تنتجه من أنزيمات تحليـــل المواد البكتينية

Enzyme	Fungi	Bacteria
Polygalacturonase Endo –Or Exo-enzymes	*Aspergillus, fusarium* *Penicillium,* *Rhizoctonia* *Monilia* , *Rhizopus*	*Bacillus, Erwinia* *Pseudomonas* *Xanthomonas* Arthrobacter
Pectate lyase Endo – or Exo –enzymes	*Fusarium.* *Geotrichum.* *Rhisoctonia*	*Arthrobacter, Bacillus* *Clostridium, Pseudomonas* *Croynebacterium, Flavobacterium*
PMG Only Endo –enzyme	*Aspergillus.* *Botrytis.*	
	Fusarium. *Rhizoctonia*	
Pectin lyase Only Endo – enzyme	*Aspergillus.* *Penicillium.* *Fusarium.* *Rhizoctonia*	*Arthrobacter.* *Clostridium.* *Corynebacterium.* *Micrococcus.* Flavobacterium. *Xanthomonas.*
Pectinesterase	*Alternaria* *Fusarium*	*Clostridium* *Pseudomonas, Xanthomonas.*



شكل رقم ١٦ : التحولات الميكروبيولوجية للمركبات الكربونية فى التربة الزراعية

الفصل الخامس :

التحولات الميكروبية للمركبات النيتروجينية فى التربة الزراعية

Microbial Transformations of Nitrogen compounds in Soil



الفصل الخامس

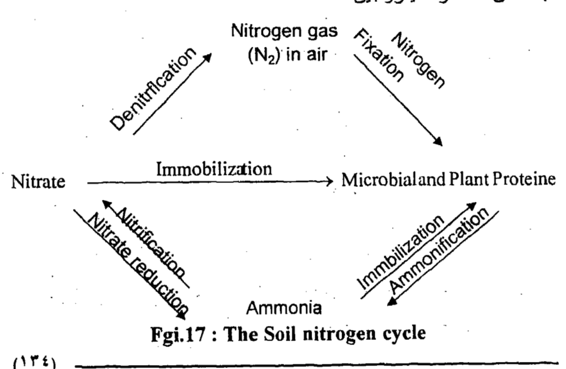
التحولات الميكروبية للمركبات النيتروجينية فى التربة الزراعية

Microbial Transformations of Nitrogen compounds in Soil

للنشاط البيولوجي في معدنة النيتروجين والفسفور والبوتاسيوم أهمية إقتصادية كبيرة نظرا لأنها العناصر السمادية الأساسية لتغذية النبات . ويعتبر النيتروجين أهمها نظراً لأنه يمثل الحجر الأساسي في جزيء البروتين ، وبالتالي يكون أساساً للبروتوبلازم في جميع الكائنات الحية . والنيتروجين يعتبر من العناصر القليلة المعرضة دائما للفقد بالتطاير أو الغسيل من التربة . وهو يضاف للتربة الزراعية في صورتين إحداهما غير عضوية علي هيئة أسمدة نيترانية أو نوشادرية أو سيناميد أو غيرها . أما الثانية فهي صورة عضوية ، وهي تشمل بقايا المحاصيل Crop residues والأسمدة الخضراء Green manures والسماد العضوي الصناعي Compost، كما تشمل بقايا حيوانية كالسماد البلدي المحتوي علي بول وروث الحيوانات وأيضا بقايا السلخانات المجازر وسماد المجاري وغير ذلك الكثير.

وكما هو معروف ، فإن النبات يمثل معظم إحتياجاتة من النيتروجين علي صورة معدنية ، لذلك فإن معدنة المواد العضوية النيتروجينية تعتبر عملية أساسية لدورة النيتروجين و خصوبة التربة . وتتعرض مركبات النيتروجين في التربة إلي عديد من التغيرات الحيوية (شكل رقم ١٧) تؤثر علي مدي قابليتها لإفادة النبات . وهذه التغيرات تتضمن معدنة النيتروجين العضوي Orgnic nitrogen بعملية تسمي المعدنة أي Nitrogen Mineralization حيث يتحلل جزء من محتوي النيتروجين العضوي في

الأراضي والذي يتضمن البروتينات والأحماض النووية والسكريات الأمينية وغيرها والناتج النهائي لعملية التحلل هو الأمونيا ، لذلك فإن هـــذه العمليـــة يطلق عليها أسم "النشدرة Ammonification" . والأمونيا المتكونة لا تلبث أن تتعرض للأكسدة البيولوجية Biological oxidation خلال عملية "التأزت Nitrification" ، والعمليتان السابقتان لهما فائدة كبيرة للنبات النامي ، حيث أن الأمونيا والنيترات يكونان هما الصورتان الرئيسيتان اللتـــان يمتصـــهما النبات. ومن الناحية الأخري ، فإن ميكروبات التربة النشطة قـــد تلجـــأ إلـــي النترات عند سيادة الظروف اللاهوائيـــة و تختزلهـــا إلـــي أمونيـــا أو أكاســـيد نيتروجينية أو حتي إلي غاز النيتروجين ، وذلك حتي تستطيع أكســـدة المـــواد العضوية والمعدنية في ظروف غياب الأكسجين بالتربة ، وتسمي هذه العمليات " أختـــزال النتـــرات Nitrate reduction وإنطـــلاق النيتـــروجين العنصريDenitrification" . وهذه تعتبر علي أيه حال ، تفـــاعلات ضـــارة بخصوبة التربة والنبات حيث تؤدي إلي فقد جزء مـــن الصـــورة الملائمـــة للنبات من عنصر النيتروجين.



Fgi.17 : The Soil nitrogen cycle

ومن التحولات الأخري التي تحدث في دورة النيتروجين ، عملية تمثيل النيتروجين في أجسام الميكروبات (Nitrogen immobilization) . وفي هذه العملية تقوم الميكروبات بامتصاص صور النيتروجين المعدنية الموجودة في التربة وتستخدمها في بناء أجسامها ، وهذا طبعا يقلل من مستوي النيتروجين المتاح لنمو النبات في الأرض "مؤقتا" إذ أنه بعد موت هذه الميكروبات ، فإن خلاياها تتحلل إلي صور نيتروجينية صالحة لتغذية النبات.

ولما كان النيتروجين بالتربة يتعرض إلي فقد مستمر نتيجة لعمليات حيوية وغير حيوية ، مثل الغسيل وإختزال النترات وإنطلاق النيتروجين العنصري ، كذلك ما تاخذه المحاصيل المختلفة ، فإن خصوبة التربة وأنتاجيتها تتوقف علي مقدار ما يعوض من هذا النقص سواء بإضافة الأسمدة النيتروجينية المعدنية والعضوية أو عن طريق تثبيت النيتروجين الجوي حيويا Biological nitrogen fixation بواسطة الميكروبات المثبتة للنيتروجين الجوي لا تكافليا

Non – Symbiotic N_2 fixers. وغيرها ومن الميكروبات المثبته للنتروجين الجوى تكافليا Symbiotic N_2 fixers وفيما يلي سوف نتناول الأدوار المختلفة لميكروبات التربة ، في التحولات النيتروجينية سالفة الإشارة وكذلك دورة النيتروجين في الطبيعة .

أولا : معدنة النيتروجين العضوي Nitrogen mineralization

تسمي عملية التحول البيولوجي للمركبات النيتروجينية العضوية إلي الصورة المعدنية " بالمعدنة Mineralization" . وعملية معدنة النيتروجين العضوي تتضمن خطوتين منفصلتين هما النشدره Ammonification وهي

عبارة عن عملية تحلل النيتروجين العضوي حتي تكون الأمونيا NH_3 ، ثم التأذت Nitrification وهي عملية يتم فيها أكسدة الأمونيا إلي نترات No_3^-.

أ – النشدره Ammonification

تحتوي التربة الزراعية علي أعداداً ضخمة من الميكروبات القادرة علي تحليل المواد العضوية النيتروجينية مثل البروتين والأحماض النووية وغيرها ، منتجة الأمونيا NH_3 كناتج أساسي لتحليل البروتين . والميكروبات المحلله للبروتين تشمل بكتيريا هوائية ولا هوائية وأختيارية وأكتينومايستات وفطريات . والنواتج النهائية لتحليل البروتين هوائيا هي: H_2S , H_2O , CO_2 NH_3 . أما التحلل تحت الظروف اللاهوائية فإنة عادة يصحبة روائح كريهه، وتسمي عملية التحلل حينئذ بأسم " تعفن Putrefaction" ، وفي هذه الحالـه فإن نواتج التحلل تكون عبارة عن أمونيا ، أمينـات ، أحمـاض أمينيـة ، أحماض عضوية ، Skatole, mercaptane, CO_2, H_2S وغيرها .

وتتم عملية تحلل البروتين بواسطه إنزيمات خارجية محللة للبروتينـات Extracellular proteases تفرزها الميكروبات . وهذه الأنزيمات تقوم بتكسـير السلسلة البيتيدية لجزيء البروتين بالتحليل المـائي . ويمكـن تصـنيف هـذه النزيمات إلي مجموعتين هما Exopeptidases وهي الإنزيمات التـي تحلـل الروابط البيتيدية الطرفية في السلسلة وEndopeptidases وهي الإنزيمـات التي تحلل الروابط البيتيدية الداخلية في السلسلة .

وعملية تكسير السلاسل البيتيدية في جزيء البروتين ضرورية حتي يمكن تحللة تحللا كاملا ، وذلك حيث أن جزيء البروتين كبير الحجم جـداً ولا يمكن أن ينفذ خلال جدر وأغشية خلايا الميكروبات ، لـذلك لا بـد أن

يتحلل خارج الخلايا Extracellularly إلي جزيئات أصغر فأصغر حتي تكون الوحدات الأساسية وهي الأحماض الأمينية:

Protein ⟶ Peptones ⟶ Polypetide ⟶ Dipeptides ⟶ Aminoacids

والأحماض الأمينية المتكونة خلال التحلل تستخدمها الميكروبات الهتروتروفية Heterotrophs كمصادر للنيتروجين والكربون ... ويتم تحلل الأحماض الأمينية بواسطة الميكروبات بطرق عديدة تختلف حسب نوع الميكروب . والهدف من هذا التحليل هو نزع مجاميع الأمين NH_2 الموجودة في جزيء الحمض الآميني لتكوين الأمونيا NH_3 ، والتي تستخدم هذه الميكروبات جزء منها في أجسامها والزائد عن حاجاتها ينفرد في التربة .

ويمكن تلخيص طرق تحلل الأحماض الأمينية ، بإيجاز شديد فيما يلي:

– Decarboxylation وتعني نزع مجموعة الكربوكسيل مع تكوين مركبات قاعدية تعرف بالأمينات Amines.

– Deamination وتعني نزع مجموعة الأمين مع تكوين أمونيا ويتم ذلك بعدة طرق منها :

1 – oxidative deamination.
2 – reductive deamination.
3 – lydrolytic deamination.
4 – hydrolytic deamintation & decarboxylation
5 - desaturation
6 – stickland reaction

ويقدر عدد الميكروبات التي لها القدرة علي تحليل المواد البروتينية في التربة الزراعية (ميكروبات النشدرة Ammonifiers) من (10^5-10^7) لكل جم تربة علي حسب نوع المادة النيتروجينية العضوية وكذلك نوع التربة .

والميكروبات التي تحلل البروتين تشمل ميكروبات هوائية منها بكتيريا ، أكتينومايستات ، وفطريات وميكروبات هوائية أختياراً وميكروبات لاهوائية والأمثلة علي تلك الأجناس الميكروبية هي:

ميكروبات هوائية :

- بكتيريا : مثل *Bacillus – Pseudomonas – Arthrobacter – Micrococcus – Sporosarcina – Proteus*
- أكتينوميسيتات: *Streptomyces*
- فطريات : *Rhizopus – Penicillium – Alternaria – Aspergillus.*

ميكروبات لاهوائية :

وتشمل الكلوستيريديات المحللة للبروتينات Proteoytic clostridia مثل *Clostridium sporogenes*

وبخصوص العوامل المؤثرة علي نشاط ميكروبات النشدرة Ammonifying organisms ونشدرة النيتروجين Factors affecting ammonification فأنه نظرا لأن الأنواع الميكروبية القادرة علي معدنة النيتروجين العضوي عديدة ، فمنها الهوائية واللاهوائية والمتجرثمة وغير المتجرثمة والحساسة للحموضة والمقاومة لها، والميزوفيللية والثرموفيللية إلخ لذلك فانه من المتوقع أن عملية النشدرة تكون نشطة باستمرار بصرف النظر عن الاختلافات في الظروف والبيئية ما دامت في الحدود التي لا تمنع النشاط الميكروبي . وعلي ذلك فإن عملية النشدرة لا تتوقف أبداً في التربة الخصبة، وإنما تتحكم العوامل الطبيعية والكيميائية في معدلها (Rate) فقط . ولقد ثبت أن معدل معدنة النيتروجين العضوي يرتبط ارتباطاً وثيقاً بمحتوي التربة من النيتروجين الكلي Total nitrogen إذ كلما زادت النسبة زاد معدل النشدرة

كما تؤثر كل من رطوبة التربة ، pH ، درجة الحرارة ، أنواع معادن الطين Clay minerals السائدة في التربة – علي معدل المعدنة . وبالإضافة إلي ما سبق، فإن نسبة الكربون إلي النيتروجين (C/N ratio) في المادة العضوية المتحللة تعتبر من أهم العوامل المؤثرة علي معدل معدنة النيتروجين العضوي (ولقد سبق لنا معالجة هذه النقطة في التحولات الميكروبية للمركبات الكربونية.

ب. التأزت Nitrification

تم إدراك دور الميكروبات في أكسدة الأمونيا إلي نترات بعد أن عزل Winogradsky في ١٨٩٠م بكتيريا التأزت. وعملية التأزت (النترتة) تتم بأكسدة الأمونيا المتكونة بالتربة أثناء عملية تحلل المادة العضوية النيتروجينية إلي نيتريت NO_2- nitrite بعملية تسمي Nitrosification ثم إلي نترات NO_3- nitrate بعملية تسمي Nitrification وبواسطة مجموعة متخصصه من الميكروبات تسمي ببكتريا التأزت Nitrifiying bacteria وتضمها عائلة واحدة تسميFamily Nitrobacteraceae بها عدد سبعة أجناس أربعة منها تؤكسد الأمونيا إلي نيتريت وتسمي ammonia oxidizers NH_3 وهي *Nitrosomonas, Nitrosopira, Nitrosococcus,* *Nitrosolobus*

والثلاثة أجناس الأخري تؤكسد النيتريت إلي نيترات أي - No_2 nitrite oxidizers وهم *Nitrobzcter, Nitrospina, Nitrococcus*

وكما سبق الإشارة ، فإن عملية التأزت تتم علي مرحلتين أولهما أكسدة الأمونيا إلي نيتريت بواسطة أفراد الأربعة أجناس ، والتي أهمها جنس *Nitrosomonas* ، كما يلي $2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + \text{Energy}$

ثم يقوم أفراد الثلاثة أجناس مؤكسدات النيتريت وأهمها *Nitrobacter* بالخطوة التالية $2\ HNO_3 + Energy \longrightarrow 2\ HNO_2 + O_2$

والميكروبات التي تقوم بالخطوتين السابقتين عبارة عن بكتيريا كيموأوتوتروفية هوائية تحصل علي الطاقة الازمة لها من عمليات الأكسدة المذكورة فقط و لذلك فهي كيموليثوتروفية حتما ووضعت تقسيميا في عائلة واحدة Fam. Nitrobacteraceae والأخيرة بدورها وضعت في مجموعة تقسيمية سميت Gram - negative, Chemolithotrophic Bacteria.

ومن أهم هذه الأجناس البكتيرية شيوعا في الأراضي الزراعية جنس *Nitrosomonas* ، ومن أكثر الأنواع التي تتبعها أنتشارا جنس *Nitrobacter* ، *N.europaea* . *Nitrosomonas monocella* *Nitrobacter agilis* , *N.winogradskyi*

وبالرغم من أن عملية التأزت تتم أساسا بواسطة البكتيريا الكيموأوتوتروفية سابقة الذكر ، إلا أنه لوحظ أن عملية أكسدة الأمونيا إلي نترات NO_3 يمكن أن يقوم بها بعض الميكروبات الهتروتروفية Heterotrophes أيضا ، ولكن هذه الميكروبات بالطبع لا تستخدم عملية الأكسدة كمصدر رئيسي للطاقة إذ تحصل علي طاقتها من المركبات العضوية . ونظرا لأن عملية التأزت تقوم بها مجموعة محدودة من الميكروبات شديدة التخصص ، فمن المتوقع أن يكون تأثير العوامل البيئية عليها واضحا وشديدا وذلك بعكس العمليات البيولوجية التي تتم بواسطة مجموعة واسعة من الميكروبات ، مثل عملية النشدرة Ammonification فإنها نادرا ما تتوقف علي تغيير الظروف طالما بقيت هذه الظروف حول

الحدود المعقولة . وعلي أية حال ، يمكن تلخيص العوامل التي تؤثر علـــي بكتيريا التأزت فيما يلي:

١ – الرقم الأيدروجيني (pH)

تعتبر الحموضة (pH) من أهم العوامل البيئية التي تؤثر علي عملية التأزت ، فلقد وجد أن الحموضة المناسبة لنمو هذه البكتيريا تقع بين رقمـــي ٧، ٩ pH . بل وجد أيضا نشاطاً لهذه البكتيريا في ظروف أكثـــر قلويـــة . وتقل فاعلية هذه البكتيريا بدرجة ملحوظة عندما يقل الرقم الأيدروجيني عن٦ pH وإضافة الجير لهذه الأراضى يكون له أثر إيجـــابي علـــي ميكروبـــات التأزت.

٢ – التهوية Aeration

من المعروف أن البكتيريا التي تقوم بعملية التأزت هوائيـــة إجبـــارا (حتما) ويقف عملها تماما عندما يكون الوسط لا هوائي ، ولـــذلك فتهويـــة الأرض بالعزق والحرث مفيدة لهذه البكتيريا ونشاطها.

٣ – الرطوبة Moisture

ثبت أن التنفس والنمو والتمثيل لهذه البكتيريا يكون مثالياً في درجـــة رطوبة تصل إلى حوالي 50 % من قدرة حفظ التربة للماء (W.H.C). ومن المعلوم أن نسبة الرطوبة تؤثر بدورها تاثيراً مباشراً علـــي نســـبة التهويـــه بالأرض.

٤ – إضافة أملاح الأمونيوم Addition of ammonium salts

٥ – الحرارة Temperature

درجة الحرارة المثلي لهذه البكتيريا ونشاطها تتراوح بين ٣٠–٣٥°م

٦ – العمق Depth

٧ – المواد المثبطة Inhibitors

ثانيا: فقد النيتروجين من التربة Nitrogen loss from soil

هناك عمليات يفقد النيتروجين بواسطتها من التربة ، وتشـــمل فقـــد بيولوجي والذى يحدث نتيجة لعمليات إختزال النتــرات وأنطـــلاق الأزوت العنصري ، وتمثيل النيتروجين في النباتات والميكروبات ، وفي بعض هـــذه الحالات يكون الفقد مؤقتا. وفقد غير بيولوجي مثل الفقد الكيميائي ، والفقد بالترشيح أو الصرف والتطاير علي صوره NH_3 ، كما أن زيادة القلوية بالأرضى تساعد علي تطاير الأمونيا بكميـــات ملحوظـــة عنـــد الـــرقم الأيدروجيني الأعلي من pH8 . كما تساعد درجات الحرارة العالية علي تشجيع التطاير Volatilization. وسوف نتعرض هنا للفقـــد البيولـــوجى لدخولة في دائرة إختصاصنا والذى يتم عـــن طريـــق إختـــزال النتـــرات Nitrate reduction وهي تحدث كما يلي:

$$NO_3^- \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow NH_4^+ \text{ (sometimes } N_2O \text{ or } NO)$$

وهذه العملية يلاحظ أنها عكس عملية التأذت تماما

وتحرير وإنطلاق النيتروجين العنصري Denitrification وفيها تختزل النترات إلي نيتروجين عنصري $NO_3^- \longrightarrow N_2$.

وقد تختزل النترات في التربة الزراعية تحت الظروف غير الهوائية بواسطة أنواعا كثيرة من البكتيريا الأوتوتروفية والهتروتروفية .

ويمكن توضيح ميكانيكية حدوث إختزال النترات وكذا أنطلاق الأزوت العنصري ، وتفسير تكون النواتج المختلفة – فيما يلي:

$$2HNO_3 \xrightarrow[-2H_2O]{+4H} 2HNO_2 + 2H \begin{cases} 2NO \xrightarrow[-H_2O]{+2H} N_2O \xrightarrow[H_2O]{+2N} N_2 \\ \longrightarrow 2NH_2OH \longrightarrow 2NH_3 \end{cases}$$

وتتم هذه التفاعلات بواسطة مجموعة من الإنزيمات تقع بالغشاء الستيوبلازمي للخلية ، فالأنزيم الذي يقوم بالخطوة الأولي من التفاعل يسمي Nitrate reductase وهو يتطلب وجود المولبدنيوم Mo ليقوم بنشاطة ، ثم يتم إختزال النتريت No_2^- إلى أكسيد النيتريك NO بواسطة إنزيم Nitiate reductase ثم تختزل أكسيد النيتريك إلى أكسيد نيتروز N_2O بواسطة أنزيم يسميNitric oxide reductase ، ثم يختزل أكسيد النيتروز أخيراً بواسطة إنزيم Nitrous oxide reductase إلي غاز النيتروجين N_2.

أما من ناحية أختزال النترات NO_3 إلي أمونيا NH_3 ، فإنه بعد تكون النيتريت NO_2^- لم يمكن توضيح الخطوات الوسيطة التالية وإن كان يفترض تكون Hydroxylamine (NH_2OH) كناتج وسطي رئيسي ولكن ذلك غير مؤكد الآن.

وعمليتي إختزال النترات ، وإنطلاق الأزوت العنصري من الواضح أنهما يقللان من مستوي النيتروجين المجهز للنبات في التربة . وتحدث عملية الإختزال هذه تحت الظروف اللاهوائية مثل غمر التربة بالماء أو عند وجود نسبة عالية من المواد العضوية القابلة للأكسدة في التربة . وفي هذا النوع من التنفس اللاهوائي تستخدم الميكروبات النترات في عملية أكسدة المواد العضوية والمعدنية ، كمستقبل للإلكترونات ، ونتيجة لذلك تختزل النترات . والظروف التي تساعد علي حدوث العمليتين – تتضمن الأتي:

١ – سيادة الظروف اللاهوائية في التربة.

٢ – وجود نسبة عالية من المواد العضوية القابلة للأكسدة في التربـــة ، لأن وجود مثل هذه المواد يشجع النشاط الزائد لميكروبات التربة ، وبالتـــالي يؤدي إلي إستهلاك الأكسجين مما يـــدفع الميكروبـــات إلـــي إســـتخدام النترات NO_3^- في أكسدة المواد العضوية والمعدنية الموجودة بالتربة.

٣ – درجة الرطوبة الأرضية: لها تأثير واضح علي العمليتين لما لها مـــن إنعكاس علي تهوية التربة ، لذلك فإن غمر الأرض بالماء يزيـــد مـــن إختزال النترات وإنطلاق الأزوت العنصري . لهذا السبب فإن أراضـــي الأرز لا تسمد بسماد نتراتي ، ولكن يفضل لها الأسمدة الأمونيومية.

٤- درجة الحموضة : لوحظ أن كثيراً من ميكروبات إختزال النترات وإنطلاق الأزوت العنصري حساسة للحموضة ، ولذا فإن أعدادها تكون قليلة في الأراضي الحامضية وتزداد أعداد هذه الميكروبات ونشاطها في الأراضي المتعادلة والمائلة للقلوية

٥- درجة الحرارة : لها تأثير أيضا علي العمليتين .

والميكروبات التي تقوم بعمليتي إختزال النترات وإنطلاق الأزوت العنصري ليست متخصصة ، فكثير منها يستطيع في الظروف العادية تحليل البروتين وإحداث عملية النشدرة Ammonification وغيرها من العمليات الحيوية ، وكلها تقوم عند سيادة الظروف اللاهوائية بعمليات الإختزال للنترات . وعلي هذا فإن وجود أعداداً كبيرة من الميكروبات القادرة علي إختزال النترات وإنطلاق الأزوت ليس معناة أن عملية الإختزال نشطة بالتربة ما لم تتوفر الظروف الملائمة لحدوثها، وأهمها سيادة الظروف اللاهوائية وتوفر المواد القابلة للأكسدة . ومتي توفرت هذه الظروف ، فإن

هذه الميكروبات تتحول إلي عمليات الإختزال الضارة بخصوبة التربة. وتجدر الإشارة هنا بأن ذلك الوضع يختلف بالنسبة للميكروبات المتخصصة مثل بكتيريا التأزت Nitrifying bacteria لأن وجود مثل هذه البكتيريا بأعداد كبيرة معناة أن عملية التأزت Nitrification نشطة فعلاً .

وعموما ، تحتوي الأرض الزراعية علي أعداد كبيرة من بكتيريا إختزال النترات قد تصل إلي أكثر من 10^6/١جم تربة. وتكون أعداد هذه البكتيريا أكبر ما يمكن حول جذور النباتات . أما من ناحية أنواع الميكروبات القادرة علي إحداث الإختزال ، فإن هذه الخاصية لم تشاهد بين أنواع الفطريات و الأكتينومايستات . أما البكتيريا التي تقوم بهذة العملية فتتضمن أنواعا تتبع لأجناس عده مثل : *Pseudomonas, Alcaligenes, Hyphomicrobium, Paracoccus, Bacillus, Serratia, Corynebacterium, Chromobacterium*

ويعتبر الميكروب *Thiobacillus denitrificans* مثلاً للبكتيريا الأوتوتروفية القادرة علي انطلاق الأزوت العنصري في التربة . وعموما ، فإن الميكروبات القادرة علي إختزال النترات وإنطلاق الأزوت كلها ميكروبات لاهوائية أختياراً حيث تستخدم الأكسجين الجوي في الأكسدة في الظروف الطبيعية ، وعند غياب الأكسجين تقوم بالأكسدة عن طريق إختزال النترات . وكما سبق أن ذكرنا ، فإن الميكروبات تقوم بإختزال النترات بهدف أكسدة المواد العضوية والمعدنية للحصول علي الطاقة تحت الظروف اللاهوائية ، ويمكن تمثيل التفاعلات التي تحدثها الميكروبات كالأتي :

الميكروبات الهتروتروفية **Heterotrophs**

$$C_6H_{12}O_6 + 12KNO_3 \xrightarrow[\text{reduction}]{\text{Nitrate}} 6H_2O + 6CO_2 + 12KNO_2 + \text{Energy}$$

$$5CH_3COOH + 8KHO_3 \xrightarrow{\text{Denitrifcaion}} 10CO_2 + 4N_2 + 6H_2O + 8KOH + \text{Energy}$$

الميكروبات الأوتوتروفية **Autotrophs**

$$S + H_2O + 3\,KNO_3 \xrightarrow[\text{reduction}]{\textit{Nitrate}} H_2SO_4 + 3KNO_2 + \text{Energy}$$

$$5S + 6KNO_3 + 2H_2O \xrightarrow{\text{Denitrification}} 4N_2 + K_2SO_4 + 4KHSO_4$$

ثالثا: تثبيت النيتروجين الجوي **Dinitrogen fixation**

المقصود بعملية التثبيت الجوي (Diazotrophy) Biological fixation ، هو إستخدام نيتروجين الهواء الجوي بواسطة الميكروبات (جدول رقم ٢١) لبناء بروتوبلازم الخلايا الحية . والقدرة علي التثبيت بيولوجيا ، موجودة في عدد من ميكروبات بدائيات النواة Procaryotes والتي تحتوي جميعها علي الإنزيم المثبت لنيتروجين الهواء الجوي ، وهو النيتروجين Nitrogenase كما تمتلك بعض الإيوكاريوتات Eucaryotes مثل الخمائر هذه الخاصية أيضا حيث يتم التفاعل التالي:

$$N_2 + 3H_2 \xrightarrow{\text{Nitrogenase}} 2NH_3$$

وعلي أية حال فإن شكل رقم ١٨ يوضح المسارات المحتملة لإختزال النيتروجين الجوي. والأمونيا المثبتة داخل جسم الميكروب تمثل لبناء مواد بروتينية كما يلي :

$$NH_3 + \text{Glutamate} \xrightarrow[\text{Glutamic synthetase}]{\text{Glutamine synthetase}} \text{amino acids} \rightarrow \text{Biosynthesis}$$

$$\swarrow$$

Proteins

وفي الطبيعة ، فإن عملية تثبيت النيتروجين الجوي تلي في الأهميه عملية التمثيل الضوئي Photosynthesis لإستمرار الحياة علـــي الأرض . ويتم إنتاج الأمونيا في عملية التثبيت البيولوجية علي درجة الحرارة والضغط الجوي الموجود، ولكن في الطريقة الكيميائية الشائع إستخدامها ، وهي طريقة Haber Bosch ، فإن إنتاج الأمونيا بإستخدام نيتروجين الجـــو وإيـــدروجين الغازات الطبيعية يتم في وجود حرارة وضغط مرتفعين مع عوامـــل مســـاعدة Catalysts – حسب المعادلة التالية:

$$N_2 + 3H_2 \xrightarrow[500^\circ C \text{ at } 250 \text{ atm}]{\text{Ferric oxide}} 2NH_3$$

ونظراً للإرتفاع الرهيب في أسعار الإنتاج للأسمدة النيتروجينية في السنوات الأخيرة من القرن السابق ، فإن الإتجاة الأن هو محاولة الإســـتفادة الكاملة من عملية التثبيت البيولوجي، للحد من إستعمال الأســـمدة المعدنيـــة الأزوتية والتي أصبحت أسعارها في غير متناول اليد، كما يسبب الإفراط في أستعمالها تلوثا للمياة الجارية والنباتات والتربة الزراعية . وبـــالنظر إلـــي الجدول رقم ٢١ يتضح أن مثبتات النيتروجين الجوي في معظمها عبارة عن بروكاريوتات Procaryotes سواء أكانت بكتيريا أو طحالب خضراء مزرقة ولكن هناك قلة من الأيوكاريوتات ومنها الخمائر وربما كان عدم الإهتمـــام بدراسة التثبيت البيولوجي للنيتروجين بواسطة الخمائر هو السبب في نـــدرة المعلومات عن دورها فـــي هـــذه العمليـــة الهامـــه. إلا إنـــة ثبـــت قـــدرة *Rhodotorula sp.* المعزولة من التربة علي تثبيت النيتروجين الغازي N_2.

وفيما يلي سوف نتعرض بالحديث عن بعض الميكروبات الهامه في تثبيت النيتروجين الجوي علي حسب العـــرض المبينـــة بجـــدول رقـــم ٢١

A:Free – living N_2 – fixing organisms

Table 21 : Biological agents that fix N_2

A / Free – living diazotrophs

	Heterotrophs	**Autotrophs**
	Azotobacteraceae	**I: Phototrophs** **A:Oxygenic (Blue-green aglae)**
Aerosic	1. *Azotobacter* 2. *Azomonas* 3. *Beijerinckia* 4. *Derxia* 5. *Azotococus*	**a.** *Unicellula* 1. *Gloeocapsa* 2. *Synchococcus* 3. *Myxosarcina*
Microaerophilic	# *Spirillaceae* 1. *Azospirillum* 2. *Aquaspirillum* 3. *Campylobacter*	**b.***Filamentous, non-heterocystous* 1. *Spirulina* 2. *Lyngbya* 3. *Plectonema* 4. *Phormidium* 5. *Oscillatoria* 6. *Pseudoanabaena*
Facultative	# *a: Bacillaceae* *Bacillus* # *b: Enterobacteriaceae* 1. *Klebsiella* 2. *Enterobacter* 3. *Enchenichia* 4. *Erwinia* 5. *Citrobacter*	**c.***Filamentous and heteocystous* 1. *Anabaena* 5. *Tolypthrix* 2. *Aulsira* 6. *Scytonema* 3. *Nostoc* 7. *Fischerella* 4. *Calothrix* 8. *estiellopsis* ***B: Anoxygenic:*** *a: Rhodospirillaceae* *Rhodospirillum, Rhodopseudomonas*
Anaerobic	# *Bacillaceae* 1. *clostridium* 2. *Desulfotomaculum* ↔ 1. *Desulfovibrio* 2. *Methanobacterium*	*Rhodomicrobium* *b: Chromatiaceae* – *Chlorobiaceae* *Chromatium* , *Thiocystie* *Thiocapsa* , *Amoebobacter* *Ectothiorhodospira*

	Yeasts: *Rhodotorula*	*II : chemosynthetic bacteria* *Thiobacteriaceae* *Thiobacillus*
	B: Symbiotic diazotrophs *Rhizobium*, *Bradyrhizo bium* → nodules on legumes *Frankia* nodules on non-legumes	

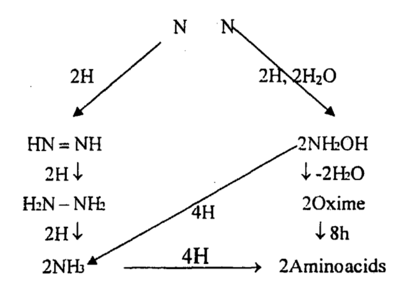


Fig. 18 : Possible pathways for reduction of N_2

الكائنات المثبتة للنيتروجين بطريقة حرة (تثبيت لاتكافلي)

أولا: الميكروبات الهتروتروفية Heterotrophic microorganisms

أ: البكتيريا الهوائية ، وتضم عائلة Azotobacteraceae ومنها الأجناس :

Azotobacter: تثبت أفراد هذا الجنس نيتروجين الهواء الجوي هوائيا، ويشترط وجود الأكسجين لنموها. وخلايا الميكروب كبيرة الحجم بالنسبة لبكتيريا التربة الأخرى ، ويتراوح طولها من ٥-٧ ميكرون وعرضها

يتروا ح من ٣-٤ ميكرون . وشكل الميكروب شبه كروي أو بيضاوي أو عصوي أحيانا ، توجد الخلايا فرديا أو في أزواج ، وتحتوي الخلية في بعض الأحيان علي جسم يشبة الفجوة ، وتكون علية (غلاف Capsule مخاطية. ومن الأنواع التي تعيش في التربة أساسا أي Typical soil inhabitant النوع *Azotobacter chroococcum* وفيه تكون الصيغة بنية فاتحة أو غامقة ، متحرك. وكذلك النوع *Azotobacter beijerinckii* وفية تكون الصيغة صفراء أو لا يكون صبغه، غير متحرك.

ومن أنواع الجنس التي تعيش أساسا في المياة Typical water inhabitant النوع *Azotobacter vinelandii* والخلايا متحركة بسرعة وتكون أصباغ خضراء مصفرة إلي حمراء أرجوانية قابلة للذوبان في البيئة Diffusible or soluble pigments

والأزوتوباكتر لا يستطيع أن يحلل السليلوز أو المواد العضوية المعقدة بالتربة الزراعية، لذلك فإنه كثيرا ما يحصل علي الطاقة اللازمة لة بالمعيشة التعاونية مع ميكروبات التربة الأخري التي تحلل هذه المواد وتنتج السكريات والأحماض العضوية وغيرها والتي تستعمل كمصدر للطاقة وتستطيع بذلك أن تثبت الأزوت الجوي بالتربة.

ولقد ثبت أن الازوتوباكتر يمكنة أن يثبت 18 ملليجرام نيتروجين /١ جم سكر يُؤكسد . والنيتروجين يثبت في أجسام الخلايا علي هيئة بروتينات غالباً ، وكلما كان الوسط خاليا من أملاح النيتروجين المعدنية مثل أملاح الأمونيا والنترات فإن التثبيت يكون أكثر ، والعكس صحيح ، ولكن لابد من توافر مصادر الطاقة اللازمة لها.

وعنصر الفسفور مهم جداً للأزوتوباكتر ، وكذلك درجة الحموضة pH لها تأثير كبير علي نموة و أنسب حموضة لنموة تقع بين pH 8.5-6.0 تقريبا.وعلي ذلك فإن الأراضي المتعادلة أو التي تميل قليلاً إلي القلوية ينتشر بها الأزوتوباكتر علي نطاق واسع وذلك بعكس الأراضي الحامضية حيث يكون إنتشاره بها ضعيفاً ومعدوما وهذه البكتيريا ميزوفيللية أي أن درجة الحرارة المثلي لها تقع بين ٣٠-٥٠°م .

Beijerinckia: يرتبط جنس البيارنكيا إرتباطا وثيقاً بجنس الأزوتوباكتر حيث أن الأول أصغر من الأزوتوباكتر وهي عصوية تحتوي علي أجسام دهنية من طراز PHB في طرفي الخلية، كما يمكن تمييزها عن الأزوتوباكتر بكثرة إفرازها للمواد السكرية المعقدة التركيب علي البيئات الصناعية، وهذه تعطي قوام هلامي لزج ، كما يمكن تمييزها بعدم إحتياجها للكالسيوم الذي يثبط نموها ، وتتحمل نطاق واسع من الحموضة يتروح بين pH 9.5-3.5 . ولو أن معدل نموها ، أقل من الزوتوباكتر إلا أن قدرتها علي تثبيت النيتروجين تكون كبيرة ، فقد تصل إلي ٢٠ ملليجرام نيتروجين / ١ جم سكر يؤكسد أئ يستهلك.

وهناك فرقاً واضحاً بين جنسي *Azotobacter* , *Beijerinckia* من حيث الإنتشار الجغرافي لأفرادها فالأزوتوباكتر ينتشر في جميع بقاع العالم بالأراضي ذات الـ pH القريب من التعادل والمحتوية علي مصادر الطاقة بكمية وفيرة ، كما توجد في مياة البحيرات والأنهار والمياة المالحة المحتوية علي الطحالب والأعشاب البحرية . أما البيارنكيا فتنتشر علي نطاق واسع في الأراضي الحامضية والمناطق الإستوائية، علاوة علي أنها تستطيع تحمل

نطاق واسع من الحموضة حيث يمكنهـا أن تعـيش فـى الأراضـى ذات الحموضة العالية . ومن الأنواع التي تتبع هذا الجنس:

Beijerinckia mobilis ، *Beijerinckia indica*

Azospirillum: كان يسمي سابقا جنس Spirillum. ولكن بعـد أن ثبـت قدراتة ١٩٧٦م علي تثبيت النيتروجين أطلق علية الأسـم الجديـد وأفـراد الأزوسبير يللام حلزونيات قصيرة (واوي أو ذو ثنيتين) سالبات لجرام غير متجرثمة تكون قشرة Pellicle بيضاء تحت سطح البيئـة السـائلة أو شـبه الصلبة . المستعمرات Colonies بيضاء أو وردية اللون علي البيئة الصلبة. وتحتوي الخلايا البكتيرية علـي حبيبـات مـن PHB (Poly β-hydroxy butyrate) حيث تعتبر هذه المادة أحد الصور الهامة لتخزين الغـذاء وكـذا مصدرا للطاقة ، وهي توجد عادة في الميكروبات المثبتـة لأزوت الهـواء الجوي عموماً . ويتراوح محتوي الخلايا من مادة PHB مـن 7.7% إلـي 33.3 % وزنا علي حسب عمر المزرعة حيث أن العلاقة طردية . ومصادر الكربون المثلي لأفراد هذا الجنس هي حمض الماليك أو الجلوكوز.

ومن الأنواع التي تتبع هذا الجنس وتوجد منتشرة في التربة النوعان:

1 – *Azospirillum brasilienses*
2 – *Azospirillum lipoferum*

وأفراد الجنس حساسة للحموضة ويناسبها الوسط المتعادل . ويحصل الميكروب علي الطاقة من أكسدة الأحماض العضـوية مثـل اللاكتيـك أو الماليك، ويمكن للميكروب أن ينمو جيدا في بيئة بها جلوكوز أو سـكروز , ولكن هذه المصادر الكربونية تشجع نمو الميكروبات الأخري معه بالبيئة.

وتعزل بكتيريا هذا الجنس عادة علي بيئة نصف صــلبة Semi -solid بها مالات الكالسيوم ومستخلص الخميرة ، والميكروب ينتشــر فــي أراضــي المناطق الإستوائية وتحت الإستوائية ، ويوجد بكثرة في الأراضي الموجود بهــا حشائش Grasses ومحاصيل الحبوب كالذرة والقمح والأرز وقصب الســكر ، وتكثر أعداده في منطقة الجذور.

وأفراد الجنس تثبت النيتروجين في الحالــة الحــرة Free - living أو بالتعاون مع جذور بعض النباتات مثل الذرة ونبات Digitaria حيــث وجــدت البكتيريا علي سطوح الجذور أو في الـــ Middle lamellae لخلايــا الجــذور، ويحتمل أنه يدخل إلي تلك المناطق بالجذر بمساعدة ما يفرزة من إنزيمات محللة للبكتين . ونظرلمقدرة هذه البكتيريا علي تثبيت النيتروجين الجوي فــي الحالــة الحرة أو بالتعاون مع الجذور فيطلق عليها تعبير "مثبتات النيتــروجين نصــف تكافلية Semi - symbiotic N_2-Fixers" ويثبت الميكروب النيتــروجين بكفــاءة تقارب كفاءة ميكروبات الأزوتوباكتر ، فهو يثبت بمعدل حوالي 5 كيلو جــرام 1000/N متر مربع / سنة وتجري الأن علي مستوي بلدان عديدة من العــالم ، دراسات إمكان استخدامه كلقاح يضاف للتربة ، خاصة في محاصيل النجيليــات كالذرة لإغناء التربة بالنيتروجين ، كما يمكن إستخدامه بتلقــيح البــذور عنــد زراعتها ، وذلك بعد تنمية الميكروب في بيئة سائلة بها قليلاً من الصمغ العربي كمادة لاصقة، وبعد النمو تصب بيئة الزرع علي البذور فتلتصق بهــا الخلايــا الميكروبية.

ولقد عزلت Dobereiner عام ١٩٨٤م نوعاً جديداً بمناطق الآمازون بامريكا الجنوبية وأسمته *Azospirillum amazonenses* يوجد بكثــرة فــي أراضي النجيليات والنخيل وتصل أعدادة علي أسطح الجذور بهذه النباتــات

إلي 10^6/١جم . ولقد أوضحت البحوث ان النباتات ذات النظام التمثيلي الضوئي C_3 مثل الأرز ، القمح ، الشعير ، الشيلم ، الشوفان تتعايش بدرجة أكبر مع *Azospirillum barzilienses*. أما النباتات ذات النظام C_4 (مثل الذرة ، والذرة السكرية ، ونباتات المراعي) فإنها تتعرض بسرعة للغزو بسهوله من *Azospirillum lipoferum* .

ب – البكتيريا غير الهوائية :

وتضم أفراد من جنس *Clostridium* حيث تستطيع كثيراً من أنواع هذا الجنس تثبيت النيتروجين الجوي لا هوائياً، ومن أهمها ميكروب *Clostridium pasteurianum* وهو من الميكروبات اللاهوائية حتما الموجبة لجرام ، المتجرثمة يجرثومة طرفية أو قريبة من الطرف مع حدوث إنبعاج . ولقد وجد أن أعداد هذا الميكروب بالتربة الزراعية قد يزيد علي 10^5/١جم ، وهو يساوي أو يزيد عن أعداد الأزوتوباكتر *Azotobacter* مما يدعو للإعتقاد بأهمية الدور الذي يلعبة *Cl.Pasteurianum* خاصة في الأراضي الحامضية وتحت الظروف اللاهوائية.

ثانيا: الميكروبات الممثلة للضوء Phototrophic Microorganisms

كثيرا من أنواع البروكاريوتات الممثلة للضوء تستطيع تثبيت النيتروجين ، ويمكن تقسيمها إلي مجموعتين كبيرتين هما الكائنات الممثلة للضوء ، غير الأكسيجينية Anoxygenic phototrophic organisms وهي تقوم بالتمثيل الضوئي تحت الظروف اللاهوائية ، ولا ينطلق الأكسجين عن العملية. الكائنات الممثلة للضوء الأكسيجينية Oxygenic phototrophic organisms وهي الطحالب الخضراء المزرقة ، وتتميز بكونها تقوم بالتمثيل الضوئي بطريقة مشابهة للنباتات الراقية ويخرج بالتالي أكسجين من عملية

البناء الضوئي . وفيما يلي سوف نتناول كل من هاتين المجموعتين بنوع من الإيجاز كما يلي:

1. **Anoxygenic Phototrophic organisms**

تتضمن أنواع البكتيريا الممثلة للضوء غيـــر الأكســـيجينية المثبتـــة للنيتروجين الجوي ثلاثة مجموعات كما يلي:

أ. **بكتيريا أرجوانية غير كبريتيـــة purple non-sulfur bacteria** وهـــي عائلة Rhodospirillaceae، وأفرادها تستطيع إستخدام المواد العضـــوية أيضا كمصادر للكربون والطاقة في غياب الضوء . ومن الأجناس التـــي تتبعها وتجدر الإشارة لها: *Rhodopseudomonas, Rhodomicrobium, Rhodospirillum*

ب. **بكتيريا أرجوانية كبريتية purple sulfur bacteria** وهي عائلة الـــ Chromatiacseae، وأفرادهـــا تســـتخدم H_2S أو الكبريـــت كمســـتقبل للإلكترونات في التمثيل الضوئي وفي حالة إستخدامها للـ H_2S يترســـب الكبريت الناتج من الأكسدة داخل الخلايا ومن الأجناس الهامه لهذه العائلة: *Ectothiorhodospira , Chromatium*

ج. **البكتيريـــا الخضـــراء الكبريتيـــة Green sulfur bacteria** وهـــي عائلةChlorobiaceae وكـــذلك البكتيريـــا الخضـــراء غيـــر الكبريتيـــة Green non-sulfer bacteria وهي عائلة Chloroflexaceae .

وتستخدم أفراد العائلـة الأولـي الـ H_2S كمستقبل للإلكترونـات فـي عمليـة البنـاء الضـوئي حيث يترسـب الكبريت النـاتج عن الأكسدة خـارج الخلايا قبل أن يتأكســـد ثانيـــا إلـــي كبريتـــات SO_4 فـــي مرحلـــة ثانيـــة ومـــن أجنـــاس هـــذه العائلة: *Chlorobium , Clathrochloris*

أما العائلة الثانية فتضم بكتيريا تستطيع إستخدام المواد العضوية كمستقبلات للإلكترونات ولذلك فهي Photoorganotrophic .

2. Oxygenic Phototrophic organisms:

وهذه المجموعة من الكائنات المثبتة للنيتروجين هي عبارة عن طحالب خضراء مزرقة، وهي ذات قدرة علي التمثيل الضوئي تماثل النباتات الراقية ، مستعملة الماء كمعطي نهائي للإلكترونات ولذلك فإنها تنتج O_2 أثناء العملية. ويوجد من تلك الطحالب أكثر من ٦٠ نوعاً لها القدرة علي تثبيت النيتروجين ، يمكن وصفها في ثلاثة مجموعات وهي:

أ. **الأنواع الخيطية التي تكون هتيروسيست Heterocystous filamentous forms مثل**

Nostoc, Anabaena, Aulosira, Calothrix, Westiellopsis, Fischerella, Tolypothrix, Cylindrospermum

ب. **الأنواع الخيطية التي لا تكون هتيروسيست Non- Heterocystous Filamentous Forms مثل**

Phormidium, Lyngbya, Spirulina, Oscillatoria, Plectonema

ج. **الأنواع وحيدة الخلية Unicellular forms مثل**

(Gloeotheca) Gloeocapsa, Aphanotheca

تلقيح التربة بالميكروبات اللاتكافلية المثبتة للنيتروجين الجوي:

إتجهت البحوث إلي زيادة أعداد الميكروبات المثبتة للنيتروجين في الأراضي لزيادة معدل التثبيت ، وإمداد النباتات بإحتياجاتها من النيتروجين ، مع تقليل التسميد النيتروجيني نظرا لما يحيط به من مشاكل التلوث والفقد والتكلفة . والدراسات علي تلقيح التربة أو البذور بالأزوتوباكتر يسمي اللقاح

Azotobacterin أو الطحالب الخضراء المزرقة Algalization عديدة ، ونتائجها مشجعة . ولقد أظهرت الدراسات أن محاصيل الذرة والطماطم والجزر والقطن تستفيد من عملية التلقيح بالأزوتوباكتر حتي تصل الزيادة في المحصول إلي ١٠% أو أكثر.

ومع أن الدراسات بالنظائر المشعة أو بتقدير النيتروجين لم تثبت بوضوح وتأكيد زيادة معنوية في محتوي التربة من النيتروجين إلا أن الأثر علي المحصول كثيراً ما يكون واضحاً وهذا أدي ألي أن كثير من الباحثين عزي أثر التلقيح بالأزتوباكتر ليس فقط لأنة مثبت للنيتروجين ، ولكن لأن الميكروب قادر علي إنتاج هورمونات ومنظمات نمو تشجع نمو النباتات وزيادة المحصول ولقد أمكن بالفعل عزل كثير من الأندولات والجبريلينات من مزارع الأزوتوباكتر.

أما الدراسات علي إستخدام الطحالب الخضراء المزرقة فهي محدودة علي محصول الأرز ، وذلك نظرا لأن هذه الطحالب تحتاج إلي رطوبة عالية لنموها . ولقد أثبتت كثير من التجارب نجاح التلقيح في زيادة محصول الأرز. وهناك محاولات جادة في بلدان كثيرة من العالم ومنها جمهورية مصر العربية وذلك منذ ١٩٧٧م في انتاج اللقاحات من الطحالب الخضراء المزرقة بشكل تجاري علي وسط صلب لتلقيح الأراضي بها أسوة بما هو متبع في الريزوبيا Rhizobia مثل *Bradyrhizobium spp. – Rhizobium spp.* في مصر وغيرها من بلدان العالم.

الكائنات المثبتة للنيتروجين الجوي تكافليا (معاشرة)

Symbiotic N_2 – fixing organisms (Symbiotic diazotrophs)

يقوم عدد كبير من البكتيريا والأكتينومايسـتات وبعـض الطحالـب الخضراء المزرقة بتثبيت الأزوت الجوي في عقد جذرية بالأشـتراك مـع بعض نباتات معـراة البـذور Gymnospermae وكـذا مغطـاة البـذور Angiospermae وفيما يلي نلخص أهم صور التكافل في العقد الجذرية:

١- التكافل بين الرايزوبيـا والنباتـات البقوليـة Rhizobia-legume symbiosis .

٢- التكافل بين الرايزوبيا والنباتـات غيـر البقوليـة Rhizobia-non legume symbiosis .

٣- التكافل بين الأكتينومايستات وغير البقوليات Actinomycetes -non legume.

٤- التكافل بين الطحالب الخضراء المزرقة ومعراة البذور Blue green algae- gymnospererms symbiosis. .... كما في السيكاس والزاميـا والماكروزاميا. وفيما يلي سنتعرض لكل من هذه الصور

أولا: البكتيريات العقدية للنباتات البقولية

عُرف منذ زمن طويل ما للنباتات البقولية من أثر كبير في خصوبة التربة ووفرة المحاصيل الأخرى التي تأتي بعد البقوليات ، مثل الحبوب . ولقد فحص حتى الآن حوالي ١٥% من النباتات البقولية علي مستوي العالم من حيث تكون العقد الجذرية ، أما الـ ٨٥%الباقية من البقوليات (أفراد العائلة) ، وأغلبها حشائش فلم يتم فحصها للآن .

وتتم عملية تثبيت النيتروجين بواسطة البكتيريا العقدية التابعة لجنس *Bradyrhizobium* , *Rhizobium* داخل العقد الجذرية ، حيث تعيش هذه الميكروبات مع النباتات البقولية معيشة تكافلية (تبادل منفعة) ، فالنبات يمد الميكروب بما يحتاجة من المواد العضوية وغير العضوية اللازمة له ، بينما تمد الميكروبات النبات بالمواد النيتروجينية ، وذلك بأن تثبت النيتروجين الجوي في النبات . وهذه الميكروبات تعيش حره في التربة الزراعية ويمكن زراعتها علي البيئات الصناعية في المعمل ، ولكنها في كلتا الحالتين سواء كانت حرة في التربة وكذا علي البيئات الصناعية لا تستطيع أن تثبت النيتروجين الجوي إذ أن تثبيت النيتروجين مرتبط بالمعيشة المشتركة للنباتات والميكروبات معاً (Symbiotic life) . ويسمي الميكروب في تلك المعيشة " بالمتكافل الصغير Microsymbiont" . ويكون الميكروب في التربة الزراعية أو البيئات الصناعية عصوي قصير ، غير متجرثم ، سالب لجرام ، ميزوفيللي Mesophile، ينمو جيداً علي بيئة المانيتول ومستخلص الخميرة أو المانيتول ومستخلص أوراق النبات البقولي المتخصص معه حيث أن مستخلص الخميرة أو اوراق النبات تحتوي علي المواد النشطة اللازمة للبكتيريا . وتحتوي البكتيريا علي حبيبات كروماتين وحبيبات PHB التي تصطبغ بالـSudan black ، أما مع الصبغ العادي فإنها تظهر غير مصبوغة مما يعطي خلايا الميكروب شكلا مخططا (محزما) Banded rods.

وهذه البكتيريا يمكنها أن تحلل العديد من الكربو ايدرات مع تراكم الحمض في بعض الأحيان ، ولكنها لا تكون غاز ، كما أنها أثناء نموها خاصة في العقد الجذرية تفرز بعض منشطات النمو النباتية مثل مشتقات الإندول وحمض الجبرنيليك والسيتوكينين .

ويظهر الميكروب في المزارع الحديثة النشطة بشكل عصوي ١×٤ ميكرون وقد تُرَي بعض الخلايا في شكل كروي ، بينما تظهر في العقد الجذرية بأشكال مختلفة متفرعة أو غير منتظمة مثل T,Y,L,X,V وتعرف هذه الأشكال باسم بكتيرويدات "Bacteroids . وهذه الأشكال نادراً ما تُرَي في المزارع النامية علي البيئات الصناعية ، ولكن يمكن وجود السكر أو أي كميات قليلة من الأحماض العضوية أو الجلسرين في البيئة الصناعية مشجعا لظهور البكتيرويدات ، علي حين أن إضافة الفوسفات أو اللبن يشجع الأشكال الكروية أو العصوية علي الظهور . وحجم البكتيرويد يتوقف علي نوع السلالة البكتيرية فهو كبير الحجم في سلالة رايزوبيا البسلة *R.leguminosarum* والمعزولة من نباتات البسلة ولكن صغيرة الحجم في سلالة الفول وهي من نفس نوع الرايزوبيا.

طبقا لتقسيم البكتيريا (Bergey's Manual, 1984) فقد وضعت هذه الميكروبات في عائلة Rhizobiaceae والتي تضم أربعة أجناس منهم إثنان يكونان عقدا Nodules علي جذور البقوليات ويقومان بتثبيت الأزوت الجوي تكافليا في العقد الجذرية ولا يفرزان مادة 3-Ketolactose والأجناس الأربعة للعائلة هم :

١. ***Rhizobium***: أفرادة سريعة النمو علي بيئة آجارمانيتول مستخلص الخميرة ، وتكون العقد علي جذور البقوليات في المناطق المعتدلة ، عادة تفرز أحماضا بالبيئة.
٢. ***Bradyrhizobium***: أفرادة بطيئة النمو علي بيئة-أجارمانيتول مستخلص الخميرة. تكون العقد في جذور بقوليات المناطق الحارة و بعض بقوليات المناطق المعتدلة ، عادة تفرز مواد بالبيئة لها تأثير قلوي.
٣. ***Agrobacterium***: لا تكون عقداً ولا تثبت الأزوت .

٤. ***Phyllobacterium***: تكون عقداً علي أوراق بعــض النباتــات التابعــة لعائلات Myrsinaceae, Rubiaceae ومقدرة أفراد هذا الجــنس علــي تثبيت الأزوت لا تزال موضع جدل.

وعلي أية حال يمكن تمييز أفراد جنس *Bradyrhizobium* , *Rhizobium* علي أساس أن أفراد جنس *Rhizobium* بكتيريا سريعة النمو Fast growing مثل بكتيريا مجموعة البرسيم الحجازي ومتوسط عمر الجيل حوالي ٤ساعات ويصل أقصي نمو بعد٤٠-٧٠ ساعة . وأفراد هذا الجنس تزيد من حموضة البيئة بعد نموها أما أفراد جنس *Bradyrhizobium* بكتيريا بطيئة النمو Slow growing مثل بكتيريات مجموعة اللوبيا Cowpea bradyrhizobia ومتوسط عمر الجيل بها حوالي ١٠ ساعات (٦-١٢ ساعة) ويصل أقصي نمو بعد ١٠٠-١٩٠ ساعة وهي تزيد من قلوية البيئة بعد النمو بها. هذا علاوة علي وجود فروقاً سيرولوجية كبيرة بين أفراد الجنسين ولا يتسع المجال هنا للتعرض لها.

التخصص في البكتيريا العقدية :

يتضمن جنس *Bradyrhizobium* , *Rhizobium* المسببان للعقد الجذرية علي النباتات البقولية ، أنواعا عديدة . وتختلف الأنواع حسب نوع النبات العائل الذي يصيبة فلكل نبات بقولي أو مجموعة من النباتات البقولية جنس معين يكون العقد عليه أما باقى الأنواع فأنها غير قادرة على غزو هذه النباتات أو قد يغزوه ولكنها تكون عقدا ضعيفة غير قادرة علي تثبيت النيتروجين . وتسمي مجموعة النباتات البقولية التي يغزوها نوع واحد من البكتيريا العقدية بإسم " مجموعة تبادلية التلقيح Cross inoculation group (جدول رقم ٢٢).

جدول رقم ٢٢ : المجموعات النباتية وأنواع البكتيريا المتخصصة في إصابتها.

أسم المجموعة	نوع البكتيريا	النباتات التي تشملها المجموعة Cross Inoculation group
أ- مجموعات سريعة النمو Fast growing *Genus Rhizobium*		
مجموعة البرسيم الحجازي Alfalfa group	*R. meliloti*	البرسيم الحجاري – الحلبة – النفل – الحندقوق.
مجموعة البرسيم Clover group	*R. trifolii*	البرسيم المصري. البرسيم الأحمر .البرسيم القرمزي
مجموعة البسلة Pea group	*R. leguminosarum*	البسلة - بسلة الزهور - العدس - الفول العادي .
مجموعة الفاصوليا Bean group	*R. phaseoli*	الفاصوليا.
ب – مجموعات بطيئة النمو Slow growing *Genus Bradyrhizobium*		
مجموعة الترمس Lupine group	*B. lupini*	الترمس
مجموعة فول الصويا Soybean group	*B. japonicum*	فول الصويا
مجموعة اللوبيا Cowpea group	***Bradyrhizobium* sp.**	لوبيا ، فول سوداني ، فاصوليا ، ليما ، اللبلاب

مراحل تكوين العقدة البكتيرية Stages of nodule formation

تبدأ عملية تكوين العقدة البكتيرية بعد إنبات البذرة مباشرة ، حيث تفرز جذور النبات إفرازات تشجع نمو الميكروبات حولة وتشجع البكتيريا العقدية الموجودة في التربة حول الجذور ، وتتكاثر حولها فإذا كانت من النوع البكتيري المتخصص لهذا النبات فإنها تلتصق بالجذور . ولقد أثبتت الدراسات أن البكتيريا العقدية يوجد علي سطحها نوع من السكريات المعقدة

Polysaccharides متخصصة لنوع النبات البقولي الذي تغزوة. فإذا كانت البكتيريا العقدية من النوع المتخصص للنبات المزروع فأنها تلتصق بة بواسطة السكريات المعقدة المتخصصة أما إذا لم تكن من النوع المتخصص للمجموعة النباتية التي يتبعها النبات المزروع ، فإن الإلتصاق لا يتم أو يكون ضعيفا وبعد الإلتصاق تبدأ عملية الغزو.

وهناك آراء عديدة تفسر الأسباب التي تساعد الميكروب المتخصص علي غزو جذور النبات العائل ومن هذه الآراء:

١. يساعد علي إنحناء الشعيرة الجذرية وغزو طرفها بالبكتيريا المتخصصة ما تفرزة بذور النبات العائل أثناء إنباتها نموها من مواد تسمي "ليكتينات Lectins" وهي عبارة عن مواد بروتينية ذات قابلية متخصصة للإرتباط بالسكريات المعقدة الموجودةعلي سطوح البكتيريا العقدية. وفي حالة البكتيريا العقدية فإنة يحدث تجاذب بين السكريات التي علي سطحها وبين الليكتينات المنتشرة علي سطوح جذور النبات البقولى (أو الشعيرة الجذرية) ، وبذلك تلتصق البكتيريا بجذور عائلها المتخصص . وعلي هذا فإن ليكتين البرسيم العادي والمسمي Trifoliin متخصص للإرتباط مع الرايزوبيا *R.trifolii* ولصقها دون غيرها بجذور البرسيم.

٢. يساعد أيضا علي غزو الميكروب المتخصص للعائل ما تفرزة جذور العائل من إنزيم Polygalacturonase ، ويفرز هذا الأنزيم نتيجة لحث البكتيريا المتخصصة المهاجمة بما تحوية من سكريات معقدة في جدارها الخارجي.

٣. يساعد في عملية الغزو أيضا ما تفرزة القمة النامية لطرف الشعيرة الجذرية عند مكان الإصابة من مادة سكرية تسمي كالوزCallose وهي β-1,3 - glucan. وهذه المادة تفرزها جذور النباتات الحديثة النمو بتأثير

البكتيريا العقدية المتخصصة بما تفرزة مـــن مـــادة Indole acetic acid ومادة الكالوز هذه تختفى من الجذور المسنة والبكتيريا العقدية تمر فـــي النبات بثلاثة أطوار وهي:

١ – Controlled Parasite : وهو الطـــور الأول وهـــو طـــور غـــزو الميكروب للجذور، حيث يبدأ تكوين العقدة مع تكوين الأوراق الأولي للنبات. وهناك إعتقاد بأن الجذور في هذا الوقت تفرز مـــواداً تعمـــل علـــي تكـــاثر البكتيريا المحيطة بها، وبذلك يتكون بالقرب من الشعيرة الجذرية مجموعـــة كبيرة من بكتيريا العقد الجذرية ، حيث تفرز بدورها مادة منشطة للنمو (مثل مركب أندول حمض الخليك IAA الذي تمثلة البكتيريا بالأكسدة مـــن مـــادة التربتوفان المفرزة من الجذور) ، وهذه تســـبب نمـــو الشـــعيرة الجذريـــة والتوائها، فتغزو هذه الميكروبات طرف الشعيرة الجذرية في منطقة الأنحناء بإعتبارها أضعف نقطة في الشعيرة . ولقد وُجدَ أنة إذا كان الميكروب مـــن نفس النوع Species الذي يصيب النبات ، فإنة يحدث هذه الانحناءة وتتكون العقدة– أما إذا كان من نوع آخر، فإنه يحدث الانحناءة فقط و لا يكون العقدة – بمعني أن الميكروب المختص بإصابة جذور الفول مثلا يحدث الإنحنـــاءة والعقدة في نبات الفول فقط، ولكنة يحدث الانحناءة فقط في نبات البرســـيم . ثم يبدأ في تكوين خيط العدوى Infection thread بعد الإصابة ، وهو مكَون من البكتيريا محاطة بأنبوبة مكونة من السليلوز والهيميســـليلوز والبكتـــين ، وهذه الأنبوبة يكونها النبات المصاب.

ويختلف خيط العدوى في السمك باختلاف النبات العائل ، ولكنة يزداد دقه كلما كان الجذر رقيقا ، ويستمر في النمو مستقيما وينحني فقط ليتبع انحناء جدار الشعيرة الجذرية. وفي المعتاد بتكون خيط عدوي واحد داخل الشعيرة الجذرية . ويستمر خيط العدوي في مسيرة في الشعيرة الجذرية حتي يصل إلي

خلايا القشرة للجذر فيخترقها ، ثم يتفرع خيط العدوي ويغزو خلايا أخري ويختفي الخيط وتتجمع خلايا البكتيريا حول أنوية خلايا قشرة الجذر. تنشط الخلايا المصابة وتنقسم حاملة خلايا البكتيريا الجديدة . وتتكون العقدة Nodule من الإنقسام السريع الغزير لخلايا النبات ومن تضخم هذه الخلايا أيضا. كما أن خلايا النبات المجاورة للخلايا المصابة ينتابها كبر في الحجم ونشاط في الإنقسام أيضا. ويعلل إنقسام الخلايا المجاورة المذكورة إلي أن خلايا البكتيريا . أيضا تفرز هرمون Heteroauxin ينتشر إليها فيسبب هذا النشاط ، ويؤيد ذلك أن العقدة وجدت غنية بهذا الهرمون . ويلاحظ أنه إذا ما دخلت إحدي سلالات الرايزوبيا Rhizobia إلي داخل النبات فإنها تمنع دخول السلالات الأخري.

ولقد وُجد أن الخلايا النباتية الموجودة في وسط العقدة محتوية علي ضعف عدد الكروموسومات (Diploid) الموجودة أصلا بخلايا النبات العادية. ولقد وجدت هذه الظاهرة في خلايا العقد الجذرية للنباتات البقولية سواء الثنائية أو ذات التضاعف الكروموسوميPolyploidy . ويحتمل أن ينشأ هذا النسيج المحتوي علي ضعف عدد الكروموسومات من خلايا ضعيفة موجودة أصلا بالجذر ولكن أجبرت علي الإنقسام كنتيجة لملامستها وإقترابها من خلايا البكتيريا.

وتتكون العقدة عادة من خلايا القشرة بالجذر كما في معظم النباتات مثل البسلة ، البرسيم الحجازي ، والبرسيم والفول . غير أنه في بعض النباتات الأخري مثل الفول السوداني يصل خيط العدوي مخترقا القشرة إلي البريسيكل والذي تتكون العقدة من إنقسام خلاياه ويتم تكوين العقدة علي الجذر في مدة لا تقل عن ١٥ يوماً من بدء الإصابة.

ويلاحظ أن نصف العقدة يوجد به الميكروبات ، أما النصف الآخر فيكون خال منها ويسمي " النصف العقيم" . وشكل الميكروبات في العقدة الحديثة السن عصوي تقريبا ، ولكن في العقدة الناضجة توجد البكتيريا علي هيئة حروف مثل "T,L,Y,X,V" وغيرها ، ويسمي هذا الطور بكتيرويدات Bacteroids وعند صبغها وفحصها ميكروسكوبيا يشاهد أنها لا تصبغ بانتظام إذ يلاحظ وجود مناطق شفافة خالية من الصبغة ثبت أنها عبارة عن Poly β-hydroxy butyrate (PHB) . وتتم عملية تثبيت النيتروجين الجوي في طور البكتيرويدات إذ أن الخلايا البكتيرية في هذا الطور تحتوي علي الإنزيم المثبت للنيتروجين الجوي وهو أنزيم نيتروجينيز Nitrogenase.

٢ – **Symbiosis** : وهو الطور الثاني ، ويعني" تبادل المنفعة " وهنا بهذا الطور تظهر المعيشة التكافلية أو معيشة تبادل المنفعة Symbiosis حيث تمد البكتيريا النبات بالمواد النيتروجينية المثبتة ، ويمد النبات البكتيريا بالمواد الكربوايدراتية. وتعتبر البكتيريا داخل الخلايا في طور الـ Bacteroids وتمكث في العقد الجذرية مدة سبعة 7 أسابيع تقريبا.

تحول البكتيريا إلي طور البكتيرويد Bacteroid يكون مصحوبا بتكون مادة شبيهة بالهيموجلوبين بالعقدة تسمي "Leghaemoglobin" والتى تلعب دوراً هاماً في عملية تثبيت النيتروجين ، وتتحكم جينات النبات في تكوين هذه المادة ، بينما تتحكم جينات الرايزوبيا Rhizobia في تكوين النظام الخاص بتثبيت النيتروجين . وهذه المادة من أنواع الهيموبروتين وتتكون فقط في العقد الجذرية المحتوية علي بكتيرويدات . وتكتسب العقدة الجذرية

النشطة لونا أحمر ورديا Pink بسبب إحتوائها علي هذه الصبغة المحتوية علي الحديد.

ولقد ثبت أن كمية الـ "Leghaemoglobin" في العقدة الجذرية ترتبط ارتباطا موجبا بكمية النيتروجين المثبت ونظراً لسهولة تقدير اليهيموجلوبين بطرق ضوئية بقياس Optical density ، فإنه يفضل إستخدام هذه الطريقة علي طرق إستخدام الوزن الطازج للعقد الجذرية كدليل جيد للمقدرة علي تثبيت النيتروجين وذلك عند مقارنة نباتات ذات أعمار متساوية.

ومن المعروف أنه إذا لم تكن الميكروبات متخصصة أي سلالة غير السلالة التي تصيب النبات ، فإن العقدة تمكث من ٧-١٠ أيام ، ولا يتكون في هذه الحالة الـ Leghaemoglobin ، وربما يشاهد نوعي العقد المذكورين علي النبات الواحد ، وتسمي العقد المتكونة عن سلالة غير متخصصة أو غير فعالة Uneffective strain باسم "العقدة الكاذبة Pseudo nodule - ". و قد تتكون أحياناً عقدا ضعيفة هزيلة و لكنها صادقة ، ويرجع ذلك إلي:

أ. كثرة النترات في التربة: حيث تسبب نمواً خضريا كبيراً وبذا تتجه كل الكربوايدرات الناتجة عن التمثيل الضوئي للنبات إلي تكوين هذا النمو الخضري بدلا من أن تصل للبكتيريا لإمدادها بالطاقة اللازمة لها .

ب.عدم وجود إضاءة كافية: حيث يسبب قلة ورود الكربوايدرات إلي العقد الجذرية كنتيجة لضعف التمثيل الكربوني (البناء الضوئي)

ج.عدم وجود كمية كافية من المعادن النادرة مثل البورون والمولبدنيوم .

٣- **Uncontrolled Parasite** : وهو الطور الثالث ، فبعد حوالي سبعة أسابيع من تكوين العقدة البكتيرية يتحول الميكروب من معيشة تبادل المنفعة

إلي متطفل بعد أن تقل المواد الغذائية الواصلة إلى العقدة فيفرز الميكـــروب الإنزيمات التى تقوم بتحليل البكتين وهـــى البكتينيـــز Pectinases لتــذيب الصفيحة الوسطي للخلايا البرانشيمية التي يسكن فيها وتنفجر العقدة بعد ذلك ويخرج الميكروب إلي التربة الزراعية مرة أخرى.

وفي تفسير آخر لذلك أنه في وقت الإزهار أو بعدة بقليل تصل درجـــة تركيز هورمون الـــ Auxin إلي قمتها ، وعندئذ تتحلل العقدة ويصـــبح لونهـــا أخضر أو بني وتختفي البكتيرويدات Bacteroids ثم تتفصل بقايا العقدة بطبقة من الفلين ، وبعدها تتآكل وتتحلل.

العلاقة الفسيولوجية بين الرايزوبيا والنبات العائل:

بفرض أن الظروف البيئية المحيطة بالنبات البقولي العائـــل (المتكافـــل الكبير Macrosymbiont) والبكتيريا المثبتة للنيتـــروجين بالتعـــايش (المتكافـــل الصغير Microsymbiont) مناسبة ، فإن عملية تثبيـــت النيتـــروجين تعاونيـــاً تتوقف علي العلاقة ما بين البكتيريا والعائل من حيث:

أ. الرايزوبيا في طور البكتيرويد تحتوي علي أنـــزيم النيتروجينيـــز الـــلازم لإختزال النتروجين الجوى(N_2) إلي أمونيا(NH_3).

ب. كما تحتوي البكتيرويد علي بعض الإنزيمات الخاصة بالقيام بالخطوات الأولي لتحويل الأمونيا إلي أحماض أمينية كالجلوتاميك Glutamic acid.

ج. ولكي يتم ذلك فإن العائل يمد البكتيريا بما تحتاجه من مصادر كربونيـــة مثل السكريات والأحماض العضوية اللازمة للتمثيل ولإنتاج الـــ ATP.

د. كما أن الأكسجين يدخل إلي الأنسجة الجذرية بكميات كافية لحفظ خلايـــا العائل و البكتيرويدات دون أن يثبط نشاط النيتروجينيـــز ويـــنظم هـــذه الإحتياجات هيموجلوبين العقدة .

هـــ. كما أن نواتج تثبيت الأزوت تنتقل عن طريق الحزم الوعائيه من العقدة إلي مراكز تكوين البروتين في النبات العائل ، وبذلك يمتنع تجمع الأمونيا بالعقدة التي تعتبر ماده مثبطة لإنزيم النيتروجينيز.

وتقوم بكتيريا العقد الجذرية بتثبيت نيتروجين الهواء الجـوي ، وهـي مهمة للنباتات منذ بدء حياتها إلي قرب حصادها ، حيث أنها تمد النبـات بمـا يحتاجة من نيتروجين فتعطي النباتات بالتالي غلة (محصول) كبيرة بدون تسميد نيتروجيني ، وكذا تمد التربة بكمية كبيرة من النيتروجين. ومـن هنـا تكـون النباتات البقولية غنية بالنيتروجين ، فمثلا يحتوي ١ طن من دريـس البرسـيم الحجازي علي ١٣٠-١٥٥ كجم بروتين علي حين يحتوي ١طن من الحشـائش أو تبن أو شعير أو قمح علي ٥٠- ٦٥ كجم بروتين.

ولقد ثبت أن مقدار ما يثبت من نيتروجين الهواء الجوي بالنسبة لهذه النباتات يختلف باختلاف نوع النبات البقولي،حيث أن محاصيل المراعي مثل البرسيم الحجازي تثبت كمية من النيتروجين تفوق كثيرا ما تثبته محاصـيل البذور مثل الفول والبسلة وفول الصويا. وعلي فرض أن البرسيم الحجازي يثبت ١٠٠ وحدة أزوت فيمكن ترتيب بعض المحاصيل البقولية كمـا يلـي: برسيم حجازي ١٠٠ وحدة ، فول الصويا ٤٢ وحدة ، فول بلدي ٢٣ وحدة ، بسلة ١٩ وحدة .

ولقد وجد أن البرسيم الحجازي يثبت تحت أحسن الظروف ما مقداره ١١٥ كجم من النيتروجين للفدان الواحـد (٤٢٠٠م^{٢}) سـنويا. ولعـل هـذا الاختلاف في مقدار ما تثبته المحاصيل البقوليه مـن الأزوت يرجـع إلـي اختلاف مدة مكثها في الأرض ، كما قد يرجع إلي اختلاف نظام مجموعهـا الجذري، فمحاصيل البذور كالفول التي لها نظام جذري محدود والذي تتكون

علية العقد الجذرية خلال فترة قصيرة من الزمن ، تثبيت كميه من الأزوت تقل عما تثبته االمحاصيل البقولية التي تبقي في الأرض مده طويلة والتي لها نظام جذري يتجدد علي مدار موسم النمو والذي تتكون علية عقدا جذرية بإستمرار ولفترة طويلة من الزمن.

أما مقدار ما تستفيدة التربة من النيتروجين المثبت بواسطة النباتات البقولية فإنة يختلف بإختلاف الطريقة التي يعامل بها المحصول عند حصادة، فإذا حرث المحصول البقولي في الأرض كسماد أخضر Green manure، فإن التربة تستفيد من جميع النيتروجين المثبت . أما إذا أكلت الحيوانات المحصول أو حول إلي سيلاج Silage لتغذيتها ثم أضيف السماد الناتج من هذه الحيوانات إلي التربة ، فإن مقدار النيتروجين الذي يضاف إلي التربة في هذه الحاله يتراوح ما بين٥٠ – ٨٠ % من مجموع النيتروجين المثبت . أما إذا أزيل المحصول بعيدا عن التربة فإن مقدار الإستفادة في هذه الحالة تكون بالقدر الذي يتبقي من هذه المحاصيل بعد حصادها ، بما في ذلك الجذور وما عليها من عقد جذرية . وهنا تختلف الإستفادة من محصول لآخر ، فالبقوليات التي لها مجموع جذري كبير مثل البرسيم ما يتبقي منها بعد الحصاد قد يحتوي علي ما يقرب من ثلث ما يحتوية النبات من أزوت ، وهذه الكميه لا تعوض فقط ما يكون قد أخذه النبات من نيتروجين التربة ، بل تزيد من كميتة فيها . أما المحاصيل الأخري مثل فول الصويا ، البسلة التي تخلع معظم جذورها عند الحصاد ، فإن ما يتبقي من مخلفاتها لا يزيد كثيراً عن سدس (٦/١) مجموع النيتروجين الكلي في النبات ، وهي بذلك قد تسلب الأرض بعض ما قد يوجد بها من النيتروجين .

وعموما فلقد ثبت من البحوث العلمية التي أجريت في جمهورية مصر العربية أن تكلفة التلقيح الميكروبي للفدان لا تتجاوز ٥ % من قيمة الأسمدة

الأزوتية التي تستخدم حالياً ، وذلك بخلاف العائد الاقتصادي الناشئ عن زيـــادة الإنتاج من التخصيب الميكروبي.

العوامل التي تؤثر علي تثبيت النيتروجبن الجوي تكافليا:

يتوقف مقدار النيتروجين الجوي الــذي تثبتــة البكتيريـــا العقديــة بالإشتراك مع النباتات البقولية علي عوامل كثيرة بعضـــها يتعلــق بالتربــة وبعضها يتعلق بكل من النبات البقولي والبكتيريا العقدية . فمثلا التهوية فــي التربة، درجة الحرارة ، نسبة الرطوبة ، الــ pH ، محتــوي التربــة مــن الكالسيوم ، المنجنيز ، الفوســفات ، المولبــدنيوم ، الكوبلــت ، ومســتوي النيتروجين المعدني (أمونيا ونترات) بالتربة . كلها عوامل هامة جداً . ولا تتوقف كمية ما تثبته النباتات البقوليه من النيتروجين الجوي علي ما ســبق ذكره من عوامل طبيعية وكيميائية فقط، ولكن تتوقف أيضا علــي عوامــل حيوية تتعلق بكل من النبات والبكتيريا ومقدار إستجابة كل منها للآخر أثناء معيشتهما المشتركة ، ويرجع التفاوت في الأستجابة بينهما إلي ما يأتي:

أ - إختلاف سلاله البكتيريا داخل النوع الواحد من الرايزوبيا

Strain variation within a species of rhizobia

فالسلالات المختلفة لنوع واحد من البكتيريا العقديــة تختلــف فــي مقدرتها علي تثبيت الأزوت الجوي بالإشتراك مع العائل (جدول رقم ٢٣) ، فمثلا إذا عزلت ١٠٠ مزرعة نقية من البكتيريا التي تصيب البرسيم من عقد جذرية لنباتات مأخوذة من حقول برسيم مختلفة ، فإن هذه السلالات البكتيرية Bacterial strains تختلف في مقدرتها علي تثبيت النيتروجين الجوى عندما تدخل فى معيشة مشتركة مع صنف واحد من البرسيم فقد وجد أن من بــين كل مائة مزرعة يتم عزلها نحو ٢٥ مزرعة لها القدرة العالية علــى تثبيــت

النتروجين، ونحو ٥٠ منها متوسطة ، بينما الباقي ليس لها إلا قدره ضـــعيفه علي تثبيت النيتروجين . ولقد أطلق علي السلالات التي لا تثبت النيتروجين أو تثبتة بكميات ضئيلة إسم "سلاله غير فعاله Ineffective strain" تمييزا لها عن السلالات الفعالة" Effective strains"

وهناك إعتقادا بأن إختلاف السلالات عن بعضها في مقدرتها علـــي تثبيت النيتروجين يرجع إلي السرعة التي تتحلل بها العقد الجذرية فالسلالات غير الفعالة تتحلل عقدها بسرعة عقب تكوينها بخلاف السلالات الفعالة التي تستمر عقدها فترة طويلة تثبت خلالها كمية كبيرة من النيتـــروجين قبـــل أن تتحلل. وعلي ذلك فالفرق بين الاثنين هو فرق كمي . فـــإذا قامـــت العقـــد الجذرية بوظيفتها مدة طويلة من الزمن تثبت خلالهـــا كميـــة كبيـــرة مـــن النيتروجين أعتبرت العقدة ناتجه من سلالة بكتيرية فعاله، أمـــا إذا تحللـــت العقدة في فترة قصيرة فإنة رغما عن مقدرتها علي تثبيت النيتروجين الجوي خلال فترة حياتها ، فإنها تعتبر ناشئة من سلالة غير فعالة.

ب – تخصص النبات العائل Host Plant specificity

تختلف السلالات البكتيرية لصنف واحد من البكتيريا العقديـــة فـــي قدرتها علي تثبيت الأزوت في العوائل المختلفة التابعـــة لـــنفس المجموعـــة التبادلية ، فإحدي السلالات قد تعطي قدرة عالية علي التثبيـــت فـــي أحـــد العوائل وقدرة أقل علي عائل ثان من نفس المجموعة ، وهذه الظاهرة تلاحظ بكثرة . فمثلا سلاله الميكروب *Rhizobium meliloti* المعزولة من البرسيم الحجازي تستطيع أن تكون عقدا جذرية مع كل من البرسيم الحجازي والنفل والحندقوق والحلبة التي تضمها مجموعة واحـــده إلا أنـــه مـــن الثابـــت أن

البكتيريا التي تعزل من عقد جذور البرسيم الحجازي تكون أقدر علي تثبيت كمية أكبر من الأزوت إذا ما لقحت للبرسيم .

Table 23 : Strain variation and host plant specificity

Species or strain of sweet clover	N fixed (in mg) per *10* plants with different strains of *Rhizobium meliloti*		
	Strain 100	Strain 105	Strain 128
Melilotus alba (32 – 19)	186.3	111.0	147.5
Melilotus suaveolens	121.0	11.0	126.0
Melilotus dentata (91-12)	149.0	95.0	131.0
Melilotus dentata(92–27)	131.0	35.8	142.4
Melilotus dentata(96-2)	111.5	142.0	138.2

الحجازي عن بقية النباتات الداخلة معة في نفس المجموعة Plant group (Cross inoculation group) (جدول رقم ٢٣) . كما أن للبكتيريا التي تعزل من العقد الجذرية لنبات الحلبة القدرة العالية علي تثبيت النيتروجين عندما تلقح بها الحلبة عما إذا لقحت في البرسيم الحجازي . وقد يكون هذا التخصص أبعد مدي، فإن سلالة واحدة من البكتيريا العقدية الخاصة بالبرسيم قد تكون أقدر علي تثبيت الأزوت بالإشتراك مع سلالة معينة من البرسيم عن سلالة أخري من نفس النوع كما هو واضح فى جدول رقم ٢٣ .

جـ - عدد البكتيريا العقدية من السلالة الملائمة في التربة

عدم وجود العدد الكافي من سلالة قوية معناة نقص في عدد العقد المتكونة علي النبات ، وبالتالي نقص معدل تثبيت النيتروجين . ومن الملاحظ أنة بعد تلقيح الأرض بالبكتيريا العقدية فإن أعدادها تتناقص في

التربة بعد فترة وهذا التناقص بإفتراض أن التربة خصبة ولا تحتوي علـــي مواد أو ظروف مانعة لنمو الميكروبات ، يرتبط بعوامل كثيرة ومنها وجود البروتوزوا Protozoa التي تلتهم البكتيريا ، وأيضا وجود البكتيريا من جنس *Bdellovibrio* التي تتطفل علي البكتيريا العقدية .وأيضا ًوجود البكتريوفاج الذى يتطفل ويحلل خلايا البكتريا العقدية . ولقد لوحظ أن إستمرار زراعـــة أرض معينة بمحصول بقولي واحد لمدة طويلة مثل البرســـيم الحجـــازي أو البرسيم العادي ، فإن المحصول يقل و النباتات تصبح ضعيفة ويطلق علـــي هذه الظاهره إسم " Alfalfa or clover sickness " . ولقد عُزي هذا إلـــي تأثير البكتيريوفاج علي البكتيريا المتخصصة ، مما يؤثر علي عملية تثبيـــت النيتروجين.

التلقيح بالبكتيريا العقدية

ثبت أن تلقيح التربة ببكتيريا العقد الجذرية للنباتات البقولية يكـــون هام جداً ، خصوصاً في الأراضي المستصلحة حديثا التي لـــم تـــزرع بعـــد بالنباتات البقوليه أوعند إدخال صنف جديد من النباتات البقولية التي لم يسبق زراعتها بعد أو حتي في الأراضي القديمة التي حدث تدهور في محتواها من البكتيريا العقدية . وتوجد عدة طرق لتلقيح النباتات البقوليه بواسطة البكتيريا العقدية نذكر منها إستعمال التربة حيث في هذه الطريقة ينقل جزء من التربة من الطبقة السطحية (٥-٢٠سم) من حقل ســـبق زراعتـــة بنجـــاح بـــنفس المحصول البقولي المراد زراعتة . وتكفي كمية ٢٠٠كجم تربة لتلقيح فـــدان (٤٢٠٠م^٢^) واحد علي أن تنثر هذه الكميه علي سطح الحقل وتخلـــط جيـــدا بالتربة قبل زراعة البذور وهذه الطريقة معيبة ، لذلك قلما تستعمل الآن . أما الطريقة الثانية فهى استعمال المزارع البكتيرية وفى هـــذه الطريقـــة تخلـــط

البذور قبل زراعتها مباشرة بمزرعة نقية من بكتيريا العقد الجذرية ، وقد تكون هذه المزارع سائلة أو علي آجار أو علي مادة حاملة carrier وهذه الطريقة شائعة الاستعمال.

مقارنة عملية التثبيت النيتروجيني التكافلية واللاتكافلية

رغم أن عملية التثبيت تتم بواسطة أنزيم Nitrogenase بطريقة متشابهه في كلا النوعين من الميكروبات إلا أنه توجد فروقاً نوجزها فيما يلي:

١. من حيث طور النمو Growth phase الذي يتم خلالة التثبيت حيث يتم التثبيت في حالة الميكروبات اللاتكافلية مثل الأزوتوباكتر *Azotobacter* في الخلايا النامية في الطور اللوغاريتمي الذي يكون متوسط عمر الجيل فيه عده ساعات حيث يتحول النيتروجين المثبت إلي بروتين خلوي . أما الخلايا غير النامية فإن النيتروجين المثبت بها يتجمع في صورة مركبات ذائبة منها NH_4^+ المثبط لعملية التثبيت في حالة الميكروبات التكافلية فإن التثبيت يتم في الخلايا غير النامية ، في الطور الثابت الذي يستمر حوالي شهر .

٢. من حيث كمية النيتروجين المثبت لكل ١ جم خلايا في حالة الأزوتوباكتر ، فإنها تثبت حوالي ٠,١جم نيتروجين /١جم خلايا ، وهذا أقل بكثير من تلك الكمية المثبتة في حالة الرايزوبيا Rhizobia التي تثبت حوالي ٠- ٢,٥ جم نيتروجين/١جم خلايا بكتيرويدات طوال مدة حياتها.

٣. كفاءة عملية التثبيت مقدرة علي أساس ملليجرام نيتروجين مثبت/١ جم جلوكوز مستهلك حيث تثبت الأزوتوباكتر حوالي ١٠ – ٢٠ ملليجرام أما

الـ *Klebsiella* . فتثبت حوالي ٥ ملليجرام والكلوستيريديا Clostridia تثبت حوالى ٥ – ١٠ ملليجرام نيتروجين لكل ١جم جلوكوز مستهلك . أما في حاله الرايزوبيا مع البسله فإنها تثبت حوالي ٢٧٠ ملليجرام نيتروجين لكل جرام جلوكوز مستهلك ، وهي كمية اكبر بكثير من المثبت في حالة البكتيريا اللاتكافليه (الحرة ، غير المعاشرة) وهذا الفارق يعود إلي ظاهرتين هما التثبيت في حالة الأزوتوباكتر والخلايا التى تعيش منفرده وحرة يكون في خلايا نامية تستهلك الكثير من الكربون والطاقة لتكون الخلايا الجديدة النامية . أما الثانية فإن خلايا الأزوتوباكتر تحتاج إلي كمية كبيرة من مركبات الكربون في التنفس الهوائي الزائد بها، وذلك لإبعاد الأكسجين عن أنزيم Nitrogenase .

مصير النيتروجين المثبت Fate of fixed nitrogen

خلايا الأزوتوباكتر وباقي الميكروبات المثبتة للنيتروجين في الحالة المنفردة الحرة ، تستعمل الجزء الأكبر من النيتروجين المثبت في تكوين خلاياها النامية، بينما تفرز حوالي ٧ – ١٣% من النيتروجين المثبت خارج خلاياها . وفي الطحالب المثبتة للنيتروجين فإن النسبة تتراوح ما بين ٢٠–٤٠% . أما في حالة خلايا الرايزوبيا فإنها تفرز أغلب ما تثبتة من نيتروجين أى أكثر من ٩٠% خارج خلاياها متوجها إلى مراكز تصنيع البروتينات في النبات.

ثانيا: تثبيت النيتروجين تكافليا في النباتات غير البقولية

Symbiotic nitrogen fixation in non-leguminous plants

أثبتت الدراسات الحديثة أن هناك نباتات غير بقولية يتكـــون علـــي جذورها عقداً بكتيرية قادرة علي تثبيت النيتـــروجين الجـــوي ، وأن هـــذه النباتات تتبع ثمانية عائلات نباتية و١٧جنسا مختلفا من النباتات مغطاة البذور Angiospermae . ومن هذه النباتات *Alnus glutinosa* وهو من الأشـــجار الخشبية ونخيل الشمع Myrica gale وهو من الأشجار التـــي تحســـن مـــن خصوبة التربة والهيبوفيـــا *Hippophae* وهـــو مثبـــت للكثبـــان الرمليـــة والكازورينا*Casuarina* وهي أشجار تستعمل كمصدات للرياح وغيرها من الأشجار . وبالإضافة للنباتات مغطاة البـــذورAngiospermae فـــإن هنـــاك بعض النباتات معراة البذور Gymnospermae تكون عقداً بكتيريـــة قـــادرة علي تثبيت النيتروجين ومن أمثلة هـــذه النباتـــات أجنـــاس *Macrozamia, Zamia, Cycas* كما هو موضح فى جدول رقم ٢٤ . والميكروب المســـبب للعقد في هذه الأحوال عبارة عن طحالب خضراء مزرقة (سيانوبكتيريا).

ومعظم تلك النباتات سواء مغطاة أو معراة البذور عبارة عن أشجار خشبية معمرة منتشرة في أماكن كثيرة من العالم في أراضـــي فقيـــرة فـــي الأزوت . وكل هذه الأشجار إذا نميت في وسط فقير في الأزوت فإن نموها يكون ضعيفا ، أما إذا تم تلقيح الوسط الذي تنمو فية بمطحون العقد الجذرية لنباتات من نفس النوع، فإن النمو يتحسن وتختفي أعراض نقص النيتروجين. والعقد الجذرية في بعض هذة النباتات مثـــل *Alnus glutinosa* قـــد يصـــل حجمها إلي حجم كرة التنس أى من ٥ – ٦سم قطـــراً وكميـــة النيتـــروجين

المثبتة تختلف حسب النبات وظروف التربـــة ، فهـــي تتـــراوح بـــين ١٢-٦٠٠كجم/هكتار في حاله هذا النبات سنويًا ، ٥٨ كجم/هكتار (١٠,٠٠٠م٢)/ السنة في حالة نبات الكازورينا . وفي الجدول رقم ١٦ تقسيما لتلك النباتات غير البقولية من حيث الميكروبات المكونة للعقد الجذرية عليها فـــي ثلاثـــه مجموعات III, II, I .

Table 24 : Non-leguminous root nodulated plants

Endophyte	Symbiotic Plant	Habitat
I:Rhizobium	*A : Angiospermae* *Trema, Zygophyllum*	tropical -subtropical plants
II: Frankia	*Alnus* *Coriaria* *Hippophae* *Casuarina* *Myrica*	temperate temperate temperate tropical cosmopolitan
III: Blue green algae	B: Gymnospermae *Cycas* *Zamia* *Macrozamia*	tropical – subtropical tropical – subtropical tropical - subtropical

I. بالنسبة لنباتات المجموعة الأولـــي "I" والتـــي يمثلهـــا نبـــات *Terma cannabina* فإن المسبب للعقد الجذرية هو بكتيريا من مجموعة الرايزوبيـــا Cowpea type وتتكون العقدة في منطقة القشرة Cortex بالجذر المصـــاب مشابه في ذلك الحالة تكون العقد الجذرية فـــي النباتـــات المصـــابة بجـــنس *Frankia* . وبالإضافة إلي نباتات الـــ Trema فقد وجدت عقدا جذرية مـــن الرايزوبيا المثبته للأزوت الجوي في بعض شجيرات صحراوية تتبع عائلة

Zygophyllaceae مثل نباتات *Zygophyllum , Tribulus , Fagonia* نامية في أراضي رملية فقيرة وفي مناطق جافة .

II. بالنسبة لنباتات المجموعة الثانية "II" مثل أشجار الناص ، نخيل الشمع ، الكازورينا ، والهيبوفيا فإن الميكروبات المثبتة للأزوت بالعقد الجذرية تتبع لجنس *Frankia* عائله Frankiaceae ، من رتبة Actinomycetales.

III. أما نباتات المجموعة الثالثة" III " فإن أكثر من ٩٠ نوعا كلها تتبع Cycadaceae مثل أشجار السيكاس وهي أشجار خشبية معمرة وجد أن جذورها تحتوي علي خيوط من الطحالب الخضراء المزرقة المثبتة للنيتروجين الجوي مثل أفراد جنس *Nostoc, Anabaena* موجودة داخل خلايا العائل في منطقة القشرة الخارجية للجذر Outer cortex . وفي حالة نبات السيكاس بالذات فإن الطحلب *Anabaena cycadeae* يوجد في منطقة مميزة بين القشرة الخارجية والداخلية للجذر. وأغلب هذه النباتات المثبتة للأزوت في المجاميع الثلاثة السابقة (I، II، III) يمكن أن تعيش تعاونيا مع فطريات الميكورهيزا ، وبذلك فإنها تستطيع أن تنمو أيضا في تربة فقيرة في الفوسفات ، وهي بدورها تغني التربة وما يجاورها من نباتات بالأزوت المثبت.

الأزولا Azolla

هو جنس من السرخسيات المائية Water ferns تقوم بعلاقة تعاون وثيقة مع الطحالب الخضراء المزرقة من جنس *Anabaena* تعرف هذه المعيشة بإسم *Azolla – Anabaena* symbiosis . من حيث تبادل نواتج التمثيل الغذائي من كربوايدرات ونيتروجين ، فكلا من النبات السرخس والطحلب يكونان وحدة واحدة . ويتم تثبيت النيتروجين خلال المعيشة

التكافلية . ولم تنجح حتي الأن زراعة الطحلب بمفردة بعيدا عن عائلة ، غير أنه أمكن زراعة العائل بدون الطحلب إذا ما توفر له النيتروجين فالسرخس هو العائل والطحلب هو الـ Endophyte Symbiont. ومن الوجهة النباتية، فإن جنس Azolla يتبع Family Azollaceae من Order Salviniales. والعائلة Azollaceae تكون جراثيم من طراز Heterospores free floating وجنس Azolla يقسم حسب طريقة التكاثر إلي ستة أنواع Species وهي : *A. caroliniana, A. microphylla, A. filiculoides, A. pinnata, A. mexicana, A. nilotica*

والأزولا نبات واسع الانتشار ، فهو يوجد في البحيرات ، جداول المياه ، وفي الحقول المغمورة بالمياه Paddy soils في كل جهات العالم خاصة في المناطق الاستوائية التي يتكاثر فيها وبسرعة ويكون عائما علي سطح البحيرات والمستنقعات فهو من النباتات المائية الطافية المكونة من ريزوم متفرع بالتبادل ، ذو أوراق مفصصة تفصيص ثنائي رأسي Overlapped bilobed leaves . وللسرخس جذور رقيقة تتدلى في الماء إلي عمق يصل إلى ٢سم في الأنواع الصغيرة أو تصل إلي ١٠سم في الأنواع الكبيرة.

ويمكن تنمية الأزولا Azolla بنجاح في مشاتل مائية بتوفير الظروف المناسبة و إستعمالها كلقاح في الأراضي المنزرعة أرزاً حيث يقوم المتعايش الداخلي Endophyte symbiont وهو الطحلب يقوم بتثبيت النتروجين والذى تستفيد منه نباتات الأرز وبذلك يوفر من عمليات التسميد الأزوتي . ومن العوامل المحددة لإنتشار الأزولا نسبة الملوحة بالوسط النامية فيه فنمو الأزولا يقل تدريجيا كلما زادت نسبة الملوحة ، فإذا وصلت النسبة إلي ١,٣% فإن النمو يقف ، وإذا ما زادت النسبة عن ذلك ، فإن النبات يموت .

والطحلب الأخضر المزرق *Anabaena azollae* (Phycobiont) الذي يوجد داخل نبات الازولا هو سلالة متخصصة لهذا النبـات وهـو يتبـع للـ :
Class: ، order: Nostocales ، Family Nostocaceae .cyanophceae

ويعيش الطحلب بداخل نبات الأزولا في شكل خيوط لزجـه تمـلأ فجوات خاصه توجد علي سطح الفص العلـوي لورقـة الأزولا . وخـيط الطحلب يتكون من خلايا برميلية الشكل ، وقطرها حوالي 5µ وطولها حوالي 8-10µ ، ويمكن تمييز ثلاثة أنواع من الخلايا علي الطحلب كما يلي:-

١. خلايا خضرية وهي مراكز التمثيل الضوئي وتمثل حـوالي ٦٠% مـن الخيط الطحلبي .
٢. خلايا Heterocyst وهي مراكز تثبيت الأزوت وتمثل حوالي ٣٠% مـن الخيط الطحلبي .
٣. خلايا Akinetes وهي خلايا ذات جدر سميكة تمثل مرحلـة الجـراثيم الساكنة بالطحلب Rsting spores وتتكون من الخلايا الخضرية وتمثـل حوالي ١٠% من الخيط الطحلبي.

ويتكاثر الطحلب بهذه الجراثيم أو بواسـطة خيـوط قصـيرة تسـمي "هورموجونات Hormogonia" تنبت من جراثيم Akinetes .

ويمتاز الطحلب وهو داخل النبات عن الطحلب المشابة الموجود في الحالة الحرة بإرتفاع نسبة محتواة من خلايـا الهتروسيسـت Heterocysts والتي تصل نسبتها إلي حوالي ٣٠ – ٤٠% وبالتالي إرتفاع معدل كفاءته في تثبيت النيتروجين بشكل ملحوظ . وبذلك فإن هذا الطحلب المتخصص يعتبر

ذو كفاءة عالية في عمليات التثبيت النيتروجيني التي وجد أنها تصل في المتوسط إلي ٢٥٠ كجم نيتروجين للفدان (٤٢٠٠م^٢) خلال أربعة شهور في موسم الأرز ، وهي كمية تعادل ½ طن يوريا أو ١,٢٥ طن من سماد سلفات النشادر . غير أنه في الظلام ، فإن معدل التثبيت يقل حوالي ٧٠% عما يثبت في الضوء.

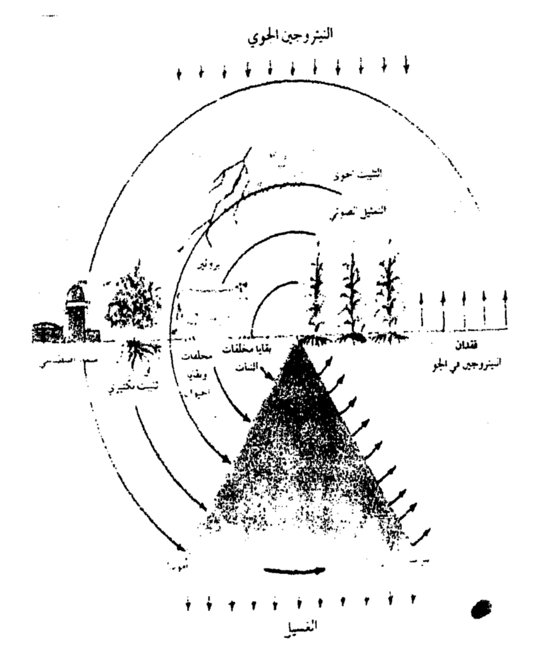
وفوائد استعمال الأزولا في الأراضي المنزرعة أرزا معروفة منذ قرون طويلة في مناطق شرق وجنوب آسيا مثل اليابان والصين والفليبين وفيتنام كسماد أخضر وكمصدر أزوتي حيث أنه بتلقيح الأراضي المغمورة بالماء المنزرعة أرزا ، بالأزولا فإن ذلك السرخس ينمو بسرعة مكونا طبقة نمو كثيفة علي سطح الماء وتثبت في أجسامها كميات كبيرة من النيتروجين ، وعند تخفيف الأرز تجف تلك الطبقة من الأزولا Azolla وتموت وتتحلل وتغذي التربة بمخلفاتها الكربونية والأزوتية فتحسن من خواصها وتزيد من إنتاجيتها.

ونظرا لأن نباتات الأزولا غنية في البروتين والمعادن ، فإنه علاوه علي إستخدامها كسماد عضوي بحقول الأرز ، فإنها تستعمل أيضا كغذاء للحيوانات والطيور وفي عمل السماد العضوي الصناعي Compost بالمزارع.

ولقد ثبت أنه في غياب النيتروجين المرتبط ، فإن الطحلب يقوم بإمداد الأزولا بإحتياجاتها النيتروجينيه، ويتم ذلك أساسا علي صورة أمونيا مع قليل من الأحماض الآمينية . وعند إدخال الأزولا في دورة زراعية مع الأرز ، فإنه يراعي أن فدان الأزولا يحتاج إلي حوالي ٣٠٠ كجم P_2O_4 ، وأن زراعه حوالي ٣ كجم أزولا في شهر نوفمبر تعطي حوالي ٢,٥ طن خلايا

رطبة/فدان في شهر فبراير علي أن ينظم موعد جمع الأزولا حتي لا يتعـــارض مع موعد بذر وشتل الأرز.

وتستطيع الأزولا أن تتضاعف مـــره كـــل ٣ – ٥ أيـــام و تعطـــي محصولا يتراوح بين ٣ – ١٠ طن/ فدان بها مـــن ٥ – ٥٠ كجـــم أزوت . ويحتوي النبات الرطب علي حوالي ٩٤%ماء ، ٤% أزوت . أمـــا النبـــات الجاف فيحتوي علي حوالي ٦٠% كربوايدرات ، ٢٥% بـــروتين ، ٢٠% رماد ونسبه ك : ن (C / N) تتراوح من ١٠:١إلى ٢٠:١ ، ويـــدخل فـــي تركيبة أيضا السليلوز واللجين والألياف . وتتحلل الأزولا فـــي الأراضـــي الغدقة بعد ٨ – ١٠ أيام من إضافتها للتربة ويســـتفيد منهـــا الأرز النـــامي بالأرض إستفادة ملحوظة بعد ٢٠ – ٣٠ يوم .وينساب ثلثـــي أزوت الأزولا بعد ٦ – ٨ أسابيع من نموها بالأراضي الغدقة. والأزولا لاتتحمل الملوحـــة المرتفعة ، ومن عوامل نجاح زراعتها العمل علي وقايتها من الأفات الفطرية والحشرية. ويبين شكل رقم ١٩ التحـــولات الميكروبيولوجيـــة للمركبـــات النيتروجينية فى التربة الزراعية.



شكل رقم ١٩ : التحولات الميكروبيولوجية للمركبات النيتروجينية فى التربة الزراعية.

الفصل السادس :

التحولات الميكروبية للمركبات الكبريتية فى التربة الزراعية

Microbial Transformations of Sulfur Compounds in soil



الفصل السادس

التحولات الميكروبية للمركبات الكبريتية فى التربة الزراعية

Microbial Transformations of Sulfur Compounds in soil

مقدمة :

يعتبر الكبريت من أهم العناصر الغذائية الضرورية للنبات . ويقدر محتوى قشرة الأرض من هذا العنصر بحوالى ٠,٠٦% ويوجد الكبريت على صورة عضوية وغير عضوية . ويعد الكبريت العضوى هو المخزن الرئيسى لكبريت التربة . يوجد الكبريت العضوى في التربة على صورتين هما الكبريت المرتبط بالكربون والكبريت غير المرتبط بالكربون . ويوجد الكبريت غير العضوى أى المعدنى في التربة على شكل كبريتات تترسب في صورة أملاح ذائبة أو غير ذائبة مثل كبريتات الكالسيوم . وكبريتات المغنسيوم وكبريتات الصوديوم .

مصادر الكبريت في التربة : Sulfur sources in soil

معادن الصخور المتحجرة في باطن الأرض عند تعرضها لعمليات التجوية الكيماوية والفيزيائية فإن هذه المعادن تتحلل وتتحرر الكبريتيد الذى يتأكسد بدوره ويتحول إلى كبريتات . وكذلك الكبريت الجوى عندما يحرق الكبريت والفحم ومركبات أخرى تحتوى على الكبريت في المعامل يتطاير ثانى أكسيد الكبريت إلى الجو والذى يرجع بدوره إلى التربة مع مياه الأمطار. وقد يكون الكبريت المتحد بالمادة العضوية حيث يوجد في التربة الرطبة كمية كبيرة من الكبريت مرتبطة بمادة التربة العضوية وكذلك يوجد

الكبريت في بقايا النباتات على شكل بروتينات كبريتية وبتحلل هذه المواد يتحرر الكبريت ويتأكسد إلى كبريتات .

وتعتبر الأسمدة الكيماوية المحتوية على الكبريت مثل السوبر فوسفات التى تضاف إلى التربة بأشكال معدنية مختلفة هى المصدر الآخر لكبريت التربة . كذلك يمكن إعتبار الكبريت المنقول بواسطة مياه الرى بشكل كبريتات مصدراً للكبريت أيضاً . هذا علاوة على الكبريت الذى يضاف إلى التربة الزراعية كمخصب خاصة الأراضى القلوية مثل الجبس الزراعى . كذلك بقايا النباتات خاصة التابعة للعائلة الصليبية Crucifers حيث تحتوى على نسبة عالية من الكبريت . ووجد أيضاً أن المخلفات الحيوانية تلعب دوراً في إمداد التربة بعنصر الكبريت حيث تمثل سماد عضوى جيد للتربة .

تمتص النباتات الراقية تمتص الكبريت فى صورة أيون كبريتات SO_4^{--} وبعد عملية الإمتصاص تختزل الكبريتات داخل النبات إلى كبريت عضوى . كثيراً من عوامل النمو تؤثر في محتوى النبات من الكبريت وللكبريت دور كبير في الوظائف والعمليات الحيوية للنبات ونقص هذا العنصر يؤدى إلى عرقلة العديد من هذه العمليات مما يؤثر سلبياً في نمو النبات . ومن أهم الوظائف الحيوية التى يقوم بها الكبريت هى مساهمته في تكوين بروتينات النبات إذ أنه يختزل داخل النبات لتكوين الأحماض الأمينية مثل الـــCystine ، Cysteine والـــMethionine التى تعد كلبنات Precursors في بناء البروتين . يشارك في تكوين روابط من الكبريتيد الثنائى SH=SH مجاميع السلفاهيدريل في البروتينات أو الببتيدات المتعددة . وهذه الروابط تشارك في تكوين الإنزيمات. يعتبر الكبريت أحد أجزاء

الإنزيمات المساعدة (COA) والفيتامينات Biotin والـThiamine علاوة على أنه يساعد في تثبيت النيتروجين عن طريق النباتات البقولية إذ يدخل في تركيب إنزيم الـNitrogenase . ونظراً لأهمية الكبريت كعنصر متحرك داخل النبات فإن نقصه يؤدى إلى ظهور أعراض النقص أولاً على الأوراق والأجزاء القديمة للنبات . والنباتات التى تعانى من نقص الكبريت يقل معدل نموها ، وتكون النباتات صلبة وقابلة للكسر وتبقى سيقان النباتات ضعيفة . ثم يتغير لون الورقة من الأخضر الفاتح وفى أكثر الأحيان يتبع ذلك إصفرار داكن وبعدها إصفرار شامل على النبات .

وعادة يوجد الكبريت في المواد العضوية على صورة مجاميع سلفهيدريل Sulfhydryl group (-SH) ، ومن أمثلة ذلك وجوده في بعض الأحماض الأمينية مثل الـcystine ، cysteine ، Methionine وكذلك في بعض المركبات الأخرى مثل الجلوتاثيون والثيويوريا كما يدخل في تركيب بعض الفيتامينات مثل الثيامين والبيوتين .

أما صور الكبريت غير العضوية فهى مختلفة وأهمها الكبريتات ، الكبريتيت، ثيوكبريتات ، تتراثيونات ، كبريتيد الأيدروجين والكبريت . المعروف أن النباتات النامية تأخذ إحتياجاتها من الكبريت في صورة كبريتات SO_4^{--} . وتتعرض مركبات الكبريت فى التربة الزراعية لعديد من التغيرات تتضمن معدنة الكبريت العضوى Organic sulfur mineralization ، تمثيل مركبات الكبريت المعدنية في أجسام الميكروبات Inorganic sulfur immobilization . حيث تتحول المركبات البسيطة إلى مركبات مرتبطة داخل خلايا الكائنات الحية الدقيقة فى التربة الزراعية .

علاوة على أكسدة مركبات الكبريت المعدنية Oxidation of inorganic sulfur compounds وأخيراً إختزال الكبريتات Sulfur reduction .

وسيادة أى نوع من هذه التفاعلات أو التحولات تتحكم فيه العوامل البيئية السادة مثل نوع التربة ومحتواها من المادة العضوية ، وحالة التهوية ، ودرجة الحرارة وغيرها من العوامل . وتتشابه التغيرات البيولوجية في دورتى الكبريت والنيتروجين في الطبيعة لحد كبير فالعنصران يدخلان في تركيب البروتين ويدخلان أيضاً في تركيب المادة العضوية في التربة في الصورة المختزلة . ولابد من حدوث معدنة لهذان العنصران حتى يصبحا في صورة ميسرة Available للنبات . كما أن أكسدة مركبات الكبريت المعدنية تشبه لحد كبير عملية التأزت Nitrification في دورة النيتروجين ، كما أن الظروف الملائمة لإختزال النترات NO_3^- هى نفسها الظروف الملائمة لإختزال الكبريتات SO_4^{--} . ومما يذكر أن تحلل المادة العضوية بيولوجيا في الأراضى والمياه ينتج عنه حوالى 10^9 – 10^{10} كيلو جرام كبريت سنويا .

أولاً : معدنة الكبريت العضوى Organic sulfur mineralization

من المعروف أن أهم صور الكبريت التي تمتصها النباتات هي الكبريتات $SO_4^=$. ويوجد الكبريت في المادة العضوية خصوصا بالأحماض الامينية الداخلة في تركيب البروتين في صورة مجاميع سلفهيدريل (-SH) Sulfhydryl group , ولابد أن تحدث معدنة لمركبات الكبريت العضوية حتي يمكن أن يتحول إلي الصورة الملائمة للنبات. وعملية معدنة الكبريت تشبة عملية النشدرة Ammonification في دورة النيتروجين لحد كبير ، ولذلك فإن البروتين المحتوي علي الأحماض الآمينية الكبريتية لابد أن يتحلل بواسطة الميكروبات المحللة للبروتينات حيث يحدث تكسير للسلاسل الببتيدية

إلي جزيئات أصغر فأصغر حتي تتكون الأحماض الأمينية . ثم بعد ذلك فإن الأحماض الأمينية المحتوية علي كبريت مثل Methionin ، Cysteine ، Cystine يحدث لها تحلل حيث يتم خلالة نزع مجاميع السلفهيدريل وينتج عن ذلك غاز H_2S وبذلك يتم معدنة الكبريت العضوي كما يلي :

$$\underset{\text{Cysteine}}{\overset{\text{SH}\quad\text{NH}_2}{CH_2.CH.COOH}} + H_2O \xrightarrow[\text{desulfhydrase}]{\text{Cysteine}} CH_3.\overset{\text{O}}{\overset{\|}{C}}.COOH + NH_3 + H_2S$$

وهناك دراسات تثبت أنة ليس من الضروري أن تتم عملية المعدنة Mineralization من خلال إنتاج H_2S – ولكن قد تحدث تحولات في الأراضي جيدة التهوية يكون من نتيجتها تكوين الكبريتات $SO_4^{=}$ دون المرور بالـ Sulfide كما يلي:

Cysteine → cystine → cystine disulfoxide

↓

Alanine + Sulfate ⟵ cysteine sulfinic acid

$$\underset{\text{Cysteine}}{\begin{matrix}COOH\\|\\CH.NH_2\\|\\CH_2.SH\end{matrix}} \longrightarrow \underset{\text{cystine}}{\begin{matrix}COOH\\|\\CHNH_2\\|\\CH.S\end{matrix}\text{-----}\begin{matrix}COOH\\|\\CH.NH_2\\|\\S.CH_2\end{matrix}} \longrightarrow \underset{\text{Cystine disulfoxide}}{\begin{matrix}COOH\\|\\CHNH_2\\|\\CH_2S\end{matrix}\text{-----}\overset{\overset{O}{\|}}{\underset{\underset{O}{\|}}{S}}\text{-}\begin{matrix}COOH\\|\\CHNH\\|\\S\text{-}CH_2\end{matrix}}$$

$$\longrightarrow \begin{matrix} COOH \\ | \\ CH.NH_2 \\ | \\ CH_2.SO_2H \end{matrix} \longrightarrow \begin{matrix} COOH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ CH_2.SO_2OH \end{matrix} \xrightarrow{H_2O} \begin{matrix} COOH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ CH_3 \end{matrix} + H_2SO_4$$

Cysteine Sulfinic acid cysteic scid alanine

يتوقف حدوث المعدنة على نسبة الكبريت في المادة العضوية أو بمعنى أصح على نسبة الكربون : الكبريت (C/S ratio) في المادة العضوية، فإذا كانت المادة العضوية ذات C/S ratio واسعة أى أنها فقيرة في نسبة الكبريت فإن الميكروبات تأخذ ما بها من كبريت لبناء أجسامها ، وإن لم يكفيها فقد تلجأ للكبريتات الذائبة في التربة ، أما إذا كانت C/S ratio ضيقة ، أى أن المادة العضوية غنية بالكبريت فإن الميكروبات تأخذ منها ما يكفيها والباقى تحدث له معدنة وينفرد غالبا على صورة H_2S . ولقد أثبتت التجارب بإستخدام عدداً من المخلفات النباتية أضيف للتربة لمعرفة أثرها على معدنة الكبريت ، أن نسبة C/S لهذه المواد تراوحت ما بين ٢٠٠ : ١ – ٤٢٠ : ١ حيث أنه عندما تكون النسبة أقل من ٢٠٠ : ١ تنشط عملية المعدنة Mineralization وعندما تزيد النسبة عن ٤٢٠ : ١ يكون النشاط في إتجاه التمثيل Immobilization حيث تأخذ الميكروبات خلال تحليلها للمواد العضوية المحتوية على كبريت جزء من كبريت المادة العضوية لبناء أجسامها والباقى تحدث له عملية معدنة . وعلى أية حال فإن المخصبات الخضراء Green manures تحلل في التربة بسرعة وترفع من مستوى

الكبريت الميسر للنبات خاصة إذا كان مصدرها نباتات صليبية Crucifers أو بقولية Legumes . هذا وهناك صوراً أخرى للكبريت العضوى حيث يوجد بالتربة يجب ذكرها وهي

Sulfate esters and ethers in the form of phenolic sulfates, sulfated polysaccharides, choline sulfate and sulfated lipids.

ثانياً : تمثيل الكبريت غير العضوى في أجسام الميكروبات

Inorganic sulfur immobilization

تستطيع الميكروبات إستخدام عدداً من صور الكبريت العضوى والمعدنى لبناء أجسامها وذلك من المواد غير العضوية مثل الكبريتات ، والثيوكبريتات ، والكبريتيدات ، الثيوسيانات ، أما المركبات العضوية فهى كالأحماض الأمينية مثل السيستين والسستين والمثيونين والبروتينات غير المتحللة وغيرها . وتختلف الصور المستخدمة حسب الميكروب ، وتحتوى الميكروبات على كبريت بنسبة تتروح من ٠,١ – ١,٠ % بأجسامها ، وبالطبع تأخذ الميكروبات إحتياجاتها من هذا العنصر من التربة . وأثر عملية تمثيل الكبريت في أجسام الميكروبات على المحاصيل النامية في الأراضى يكون قليلاً بالمقارنة مع ما يحدث في حالة النيتروجين ، وذلك لأن كمية الكبريت في أجسام الميكروبات أقل كثيراً من نسبة النيتروجين التى تتراوح من ٥ – ١٠ % حسب ما إذا كانت بكتيريا ، فطر أو أكتينوميستات حيث تكون نسبة الكربون في حدود ٥٠% في المتوسط ولكن مع ذلك فقد تحدث حالات نقص للكبريتات اللازمة لتغذية النبات في حالة إضافة مادة عضوية كربوهيدراتية سهلة التحلل، فقيرة أو خالية من الكبريت مثل السليلوز . وهذا يؤدى إلى نقص في مستوي الكبريتات نتيجة تمثيل الميكروبات للكبريت غير

العضوى أثناء نموها على حساب السكر العديد وفى هذه الحالة فإن النباتات النامية فى التربة سوف تعانى من نقص الكبريت .

ثالثاً : أكسدة مركبات الكبريت غير العضوية

Oxidation of inorganic sulfur compounds

تقوم مجموعة من البكتيريا الأتوتروفية Outotrophs بأكسدة الكبريت أو كبريتور الأيدروجين إلى كبريتات وأيون الأيدروجين . وتعتبر هذه العملية مفيدة لخصوبة التربة الزراعية حيث يتحول فيها الكبريت إلى صورة صالحة لتغذية النباتات . ويمكن تقسيم البكتيريا المؤكسدة للكبريت إلى:

١- بكتيريا كيموأوتوتروفية Chemoautotrophic bacteria

وهى بكتيريا هوائية تحصل على طاقتها من أكسدة مركبات الكبريت المعدنية ، وهذه لا تكون صبغات داخل خلاياها وتشمل المجموعات الآتية :

أ) بكتيريا كيموليثوتروفية حتمية وهذه تشمل الأجناس الآتية :

Thiobacillus, *Thiobacterium*, *thiovulum*, *Thiospira*, *Macromonas*, *Sulfolobus*

وأهم هذه الأجناس نشاطا في أكسدة مركبات الكبريت غير العضوية هو جنس *Thiobacillus* واهم صفاته المورفولوجية أن خلاياه عبارة عن عصويات ١-٣ × ٠,٥ ميكرون ، غير متجرثم ، سالب لجرام ، يتحرك بواسطة فلاجيلا طرفية . ويشمل هذا الجنس تسعة أنواع منها خمسة على درجة كبيرة من الأهمية في أكسدة مركبات الكبريت المعدنية وهى بكتيريا *Thiobacillus ferrooxidans* الذى يتميز بقدرته على استخدام أملاح

الحديدوز أو أملاح الكبريت مصدر للطاقة وكذلك بكتيريـــا *Thiobacillus thiooxidans* .

ويتميز هذين النوعين بتحملها الشديد للحموضة ، حيث تعتبر درجة الحموضة المثلى لهما هى ٢ - ٣,٥ . وكذلك أنواع *Thiobacillus novellus* ، *Thiobacillus thioparus* ، *Thiobacillus denitrificans* وتتميز الثلاثة أنواع الأخيرة بنموها على درجات pH متعادلة أو حتى مائلة قليلاً للقلوية .

وتنمو أنواع البكتيريا السابق ذكرها تحت الظروف الهوائية ، فيما عدا الميكروب *Thiobacillus denitrificans* فهو يستخدم النترات كمستقبل للإلكترونات تحت الظروف اللاهوائية حيث يقوم بتحويل النترات إلى مركبات نيتروجينية غازية ويؤكسد في نفس الوقت الثيوكبريتات أو بعض المركبات الكبريتية الأخرى .

وكما سبق أن أشرنا فإن جميع الأنواع السابقة تعتبر كيموأوتوتروفية حتماً تحصل على الكربون من CO_2 الجوى ولا تستطيع تحلل مركبات الكربون العضوية فيما عدا *T. novellus* حيث أن له القدرة على أكسدة مركبات الكربون العضوية للحصول منها على الطاقة .

ويتميز جنس *Thiobacillus* بانه لا يرسب حبيبات الكبريت داخل خلاياه وتقوم الأنواع التابعة لهذا الجنس بأكسدة مركبات الكبريت غير العضوية مثل الكبريت المعدنى ، الثيوكبريتات ، تتراثيونات .

T. thiooxidans & *T. novellus*

$$Na_2S_2O_3 + 2O_2 + H_2O \longrightarrow 2NaHSO_4 + energy$$

T. thioparus

$$5Na_2S_2O_3 + 4O_2 + H_2O \longrightarrow 5Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 4S + energy$$

$$Na_2S_4O_6 + Na_2CO_3 + {}^1/_2O_2 \longrightarrow 2Na_2SO_4 + 2S + CO_2 + energy$$

T. denitrificans

$$5S + 6KNO_3 + 2H_2O \longrightarrow K_2SO_4 + 4KHSO_4 + 3N_2 + energy$$

ب) جنس Beggiatoa

يتبع عائلة Beggiatoaceae من رتبة Cytophagales في "The Gliding Bacteria". الميكروب يتجمع خيطى الشكل ويوجد في شكل Trichome ، ويترسب الكبريت داخل الخلايا ثم يختفى بالأكسدة إلى SO_4^{--} حيث يقوم الميكروب بأكسدة مركبات الكبريت كما يلى :

$$2H_2S + O_2 \longrightarrow 2S + 2H_2O + energy$$

$$2\ S + 3O_2 + 2H_2O \longrightarrow 2H_2SO_4 + energy$$

جـ) جنس *Thiothrix*

يتبع لعائلة Leucotrichaceae من ذات الرتبة السابقة وهو يشبه لحد كبير ميكروبات الـ*Beggiatoa* من حيث التجمع في شكل خيطى والترسيب لحبيبات الكبريت داخل الخلايا ولكنه يتميز عنه في أنه يكون شكل خيطى متفرع يشبه الوردة من عديدات الخلايا وحيث تنقسم الخلايا الطرفية لخيوط مكونة وحدات تكاثرية تعرف باسم "جونيدات Gonidia" وهى وسيلة إنتشاره في الطبيعة .

٢- بكتيريا ممثلة للضوء Photosynthetic bacteria

وتتميز هذه المجموعة بأنها لا هوائية وتحصل على الطاقة من الضوء Phototrophic وتحتوى على صبغات داخل خلاياها ولذلك فهى ملونة لوجود خليط من صبغات الكلوفيل البكتيرى والكاروتينات التى تتراوح ألوانها من الأرجوانى ، البنفسجى ، الأحمر ، البنى ، البرتقالى ، والأخضر. ويمكن للبعض تخزين حبيبات الكبريت داخل الخلايا والبعض الآخر يرسبه خارج الخلايا ، في حين أنّ هناك بكتيريا ممثلة للضوء وغير كبريتية أى أنها لا تستطيع إستخدام مركبات الكبريت إطلاقا .

ولقد وضعت جميع البكتيريا الممثلة للضوء في مجموعة واحدة وهى Anoxygenic phototrophic bacteria التى تشتمل رتبة Rhodospirillales والتى تشمل بدورها على بكتيريا إرجوانية غير كبريتية Purple non-sulfur bacteria (Rhodospirillaceae) ، بكتيريا أرجوانية كبريتية Purple sulphur bacteria (Chromatiaceae) ، بكتيريا خضراء كبريتية green sulfur bacteria (Chlorobiaceae) وبكتيريا خضراء غير كبريتية Green non-sulfur bacteria (Chloroflexaceae) .

وتستطيع أفراد الـChromatiaceae النمو في وجود الكبريتيدات أو الكبريت كمعطى وحيد للإلكترون ، ولها القدرة على تكوين حبيبات كبريت عنصرى خارج أو داخل الخلايا إذا أمدت بالكبريتيدات . كما يمكنها علاوة على ذلك أكسدة الكبريت المتراكم من الخطوة السابقة إلى كبريتات . معظم الأفراد لا هوائية حتماً ، وتضم عدة أجناس لها القدرة على تخزين حبيبات الكبريت الناتج من أكسدة الكبريتيد داخل خلاياها باستثناء جنس واحد هو *Ectothiorhodospira* والذى يرسب حبيبات الكبريت العنصرى خارج

خلاياه . وبصفة عامة فإن الكبريتات تعتبر الناتج النهائى لأكسدة مركبات الكبريت بقصد الحصول على الطاقة وبناء الخلايا الجديدة . وتتواجد هذه البكتيريا في المناطق المائية مثل المصارف والمستنقعات والبرك خاصة المحتوية منها على تركيزات عالية من الكبريتيد وكذلك في الأراضى التى تحتوى على طين أسود ، والجنس المثالى هو *Chromatium* .

أما أفراد عائلة Chlorobiaceae فتستطيع ترسيب حبيبات الكبريت العنصرى خارج خلاياها عند إنمائها في وسط يحتوى على الكبريتيد ولكنها لا تستطيع تخزين الكبريت داخل خلاياها باستثناء جنس واحد هو *Clathrochloris* . جميعها لا هوائية حتما ، يمكن للبعض منها أن تستخدم الإيدروجين الجزيئى كمطى للإلكترون بشترط وجود الكبرتيد وبذلك فهى تقوم بدور عظيم في أكسدة الكبريت المختزل (H_2S) إلى حمض كبريتيك أثناء حصولها على الطاقة . ونتيجة للأكسدة يتكون ايون الأيدروجين ، وعلى ذلك فإضافة الكبريت تعتبر من الطرق الناجحة في إصلاح الأراضى القلوية. وتحتوى العائلة على خمسة أجناس ، المثالى منهم هو *Chlorobium* .

ويمكن توضيح المعادلات الكيماوية التى تلخص عمل هاتين العائلتين الكبريتيتين فيما يلى :

$$2H_2S + CO_2 \xrightarrow[\text{Energy}]{\text{Light}} 2S + (CH_2O) + H_2O$$

$$2S + 3CO_2 + 3H_2O \xrightarrow[\text{Energy}]{\text{Light}} 2SO_4^{--} + 3(CH_2O) + 4H^+$$

$$H_2S + 2CO_2 + 2H_2O \xrightarrow[\text{Energy}]{\text{Light}} H_2SO_4 + 2(CH_2O)$$

وتختلف عملية التمثيل الضوئى التى تقوم بها أفراد Order Rhodospirillales عن تلك التي تقوم بها الطحالب والنباتات الخضراء في أنها تحدث في البكتيريا في ظروف لا هوائية ، ولا ينطلق الأكسجين فيها كناتج نهائى وكذلك فإن معطى الإلكترون يكون عبارة Anoxygenic عن مركبات مختزلة Reduced compounds مثل مركبات الكبريت القابلة للأكسدة أو الأيدروجين الجزيئى أو مركبات عضوية . هذا على عكس النباتات الخضراء والطحالب حيث يكون معطى الإلكترون هو الماء H_2O وينطلق منها أكسجين Oxygenic كما يبدو من المعادلات التالية :

A: Plant photosynthesis

$$CO_2 + 2H_2O \xrightarrow[\text{Energy}]{\text{Light}} (CH_2O) + H_2O + O_2$$

Or

$$6CO_2 + 12H_2O \xrightarrow[\text{Energy}]{\text{Light}} C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 6O_2$$

B: Bacterial photosynthesis

$$CO_2 + 2H_2S \xrightarrow[\text{Energy}]{\text{Light}} (CH_2O) + H_2S + 2S$$

٣- بكتيريا كيموأوجانوتروفية Chemoorganotrophic bacteria

تستطيع بعض البكتيريا والأكتينوميستات والفطريات القيام بأكسدة مركبات الكبريت المعدنية ، وهذه الميكروبات الهتيروتروفية Heterotrophs لا تحصل على الطاقة من هذه التفاعلات والتى تعتبر ذات أهمية ثانوية في التمثيل الغذائى لهذه الميكروبات وبعكس الميكروبات الأوتوتروفية والتى تعتبر تفاعلات الأكسدة فيها المصدر الرئيسى أو الوحيد للطاقة . وتتضمن البكتيريا الهتيروتروفية القادرة على الأكسدة أنواعا تابعة لأجناس *Bacillus*، *Arthrobacter* ، *Pseudomonas* ، *Flavobacterium* . وكذلك أنواعا تتبع لجنس *Streptomyces* . وبعض الفطريات التابعة لأجناس *Aspergillus* ، *Microsporum* ، *Penicillium* .

ونظراً لأن أعداد الميكروبات الهتيروتروفية المؤكسدة لمركبات الكبريت كبيرة ، فقد يظن أن هذه الميكروبات تلعب دوراً هاماً في أكسدة مركبات الكبريت قد يفوق دور الميكروبات الأتوتروفية ، ويستدل على ذلك من تكون كميات كبيرة من الكبريتات بفعل هذه الفطريات واسعة الإنتشار والأنواع الكثيرة من البكتيريا غير ذاتية التغذية القادرة على أكسدة الكبريت غير العضوى .

رابعاً : إختزال مركبات الكبريت غير العضوية

Reduction of inorganic sulfur compounds

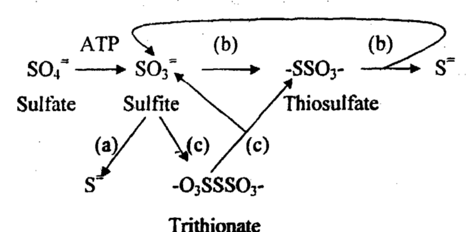
وضعت هذه المجموعة من البكتيريا تحت عنوان Dissimilatory sulfur or sulfate-reducing bacteria حيث تقوم هذه البكتيريا بإختزال الكبريتات أو الكبريتيد أو الثيوكبريتات أو التتراثيونات

تحت ظروف لا هوائية مكونة كبريتور الأيدروجين ، ومن أهم هذه الميكروبات :

١- *Desulfovibrio desulfuricans*

أفراد هذا الجنس تقوم بإنتاج H_2S من الكبريتات بمعدلات سريعة ، بعض أفراده قد تنمو في الحرارة المرتفعة وهى بكتيريا عصوية منحنية ، غير متجرثمة ، سالبة لجرام ، لا هوائية حتماً ، متحركة بواسطة فلاجيلا طرفية قطبية . ويتميز هذا الميكروب بأنه لا ينمو على درجة pH أقل من ٥,٥ ، وهذا ينعكس على عدم تكوين الكبريتيد بكميات كبيرة في الأراضى الحامضية.

ويوجد هناك ثلاثة مسارات للتمثيل الغذائى للكبريتيد وهى موضحة في شكل رقم ٢٠ : (أ) إختزال مباشر لإنتاج الكبريتيد مع عدم تكوين نواتج من الكبريت الحر ، (ب) تتكون أولاً الثيوكبريتات التى تتكسر بعد ذلك لإنتاج الكبريتيد مع إعادة تكوين بعض الكبريت ، (جـ) إنتاج الثيونات الثلاثية أولاً التى تتحول بعد ذلك إلى خليط من الثيوكبريتات والكبريتيت .



شكل رقم ٢٠ : المسارات المحتملة لإختزال الكبريتات بواسطة *Desulfovibrio*

٢- *Desulfotomaculum nigrificans*

أفراد هذا الجنس مكونة للجراثيم وهى إما محبة للحرارة المتوسطة أو محبة للحرارة العالية وهى بكتيريا لا هوائية حتماً تقوم بإختزال الكبريتات إلى H_2S وتبين المعادلات التالية تفاعلات إختزال الكبريتات بواسطة الميكروبات السابقة :

$$MgSO_4 + 2CH_3.CH_2OH \longrightarrow H_2S + Mg(OH)_2 + 2CH_3.COOH$$

$$MgSO_4 + CH_3.COOH \longrightarrow H_2S + Mg(OH)_2 + 2CO_2$$

وتقوم هذه الميكروبات بإختزال الكبريتات أو الكبريتيت أو الثيوكبريتات ، كما أن بعض الفطريات والأكتينوميستات وبعض البكتيريا الأخرى مثل *Pseudomonas desulfuricans* ، *Bacillus megaterium* تستطيع القيام بعملية الإختزال .

ومن الجدير بالذكر أن ميكروب *Pseudomonas zelinskii* له القدرة على إختزال المركبات الكبريتية غير العضوية على حساب مواد معطية للأيدروجين ، لذلك فهذا الميكروب له القدرة على إنتاج الطاقة من مواد عضوية ، وكذلك من المواد غير العضوية مثل الأيدروجين ، ويستطيع هذا الميكروب استخدام الأيدروجين أو المواد العضوية المحتوية على أيدروجين في الإختزال ، وعلى هذا يعتبر هذا الميكروب أوتوتروفى إختيارى Facultative autotrophy . والظروف التى تساعد على إختزال مركبات الكبريت تتضمن زيادة الرطوبة وإضافة مواد سهلة التحلل للتربة وإرتفاع درجة الحرارة ، كما أن العملية تكون سريعة في الأراضى المتعادلة أو المائلة للقلوية .

للكائنات الدقيقة المسئولة عن خفض كمية الكبريتات الميسرة تأثير كبير على خصوبة التربة حيث أنها تقلل من مصدر الإمداد الرئيسى للمحاصيل الزراعية بعنصر الكبريت . لذلك فإن البكتيريا المختزلة للكبريتات تعتبر ذات أهمية إقتصادية كبيرة . ويبدو أن H2S الحر هو الذى يسبب هذه الأضرار للجذور وأن أيونات الحديدوز التى تعمل على ترسيب هذا الكبريتيد في صورة FeS تقلل أو تعمل على حماية النبات من التأثير السام للكبريتيد . يمكن أيضاً أن يعمل H_2S الذى تنتجه الميكروبات من جنس *Desulfovibrio* على قتل النيماتودا والفطريات التى تعيش فى الأراضى المغمورة بالماء . وقد يكون لهذه الميكروبات اللاهوائية دوراً بارزاً فى الأراضى الملحية من المناطق الجافة . فعند غمر هذه الأراضى بالماء ، وأحياناً ما يحدث ذلك ، فإنه ينتج عن إختزال البكتيريا للكبريتات إنتاج كميات متكافئة من الكربونات وهذه بدورها تعمل على ترسيب الكالسيوم فى صورة $CaCO_3$ وبذلك تقلل من ملوحة التربة .

نشاط السلفاتيز فى التربة الزراعية Sulfatase activity in soil

ونظراً لأن نسبة كبيرة من الكبريت العضوى فى التربة تكون على صورة sulfate esters فإن إنزيمات الـــSulfatase تلعب دوراً هاماً فى عملية المعدنة لهذه المركبات الكبريتية العضوية . ولقد ثبت وجود إنزيمات Sulfohydrolases فى أنواع عديدة من الأراضى حيث تقوم بتحرير الكبريتات من مركبات الـــ alkyl-, aryl and sugar sulfates . وتجدر الإشارة إلى أن مجموعة إنزيمات الـــArylsulfatases كانت أول إنزيمات من طراز Sulfatases تكتشف فى التربة الزراعية وكان ذلك عام ١٩٧٠ .

علاوة على الطرق الكيميائية التى تتبع لقياس يسر الكبريت Sulfur availability indexes فإن هناك تقديرات ميكروبية Microbial assays تؤدى إلى نفس الغرض فمثلاً يستعمل سلالة خاصة من فطر *Aspergills niger* كميكروب حساس Test organism لقياس الكبريت الميسر ، وحيث تؤخذ كمية النمو دليلاً على كمية الكبريت .

الأسمدة الكبريتية :

ومن الأسمدة الكبريتية التى تستخدم لمعالجة نقص الكبريت فى التربة الزراعية .

١- الكبريت :

سماد الكبريت S عبارة عن مادة صفراء اللون عديمة الرائحة غير لماعة يمكن إستعمالها صلبة أو سائلة . وهذا السماد يستعمل مباشرة فى الزراعة بعد إستخراجه من باطن الأرض ويحتوى على ٥٠-٩٠% من عنصر الكبريت أو أكثر وذلك حسب درجة نقاوته .

٢- حامض الكبريتيك :

حامض الكبريتيك (H_2SO_4) عبارة عن مادة ثقيلة عديمة اللون ذات قوام دهنى ويطلق عليه Oil of vitriol

٣- الجبس :

سماد الجبس ($CaSO_4.2H_2O$) عبارة عن مادة بيضاء اللون يحتوى على عنصرى الكبريت والكالسيوم . هذا السماد معدن يوجد على شكل صخور ناعمة أو مادة تشبه الرمل من حيث الشكل . الجبس الزراعى

يحتوى على ٥٠-٩٥% كبريتات الكالسيوم ، وكبريتات الكالسيوم النقية تحتوى على ٢٣,٥% كبريت (S) و٢٩,٢% كالسيوم ؟

٤- كبريتات الأمونيوم

سماد كبريتات الأمونيوم ($(NH_4)_2SO_4$) يحتوى على ٢٤% كبريت (S) و ٢١% نيتروجين .

٥- كبريتات البوتاسيوم

سماد كبريتات البوتاسيوم (K_2SO_4) يحتوى على ١٨% كبريت (S) و ٤١% بوتاسيوم K .

٦- كبريتات الألمونيوم :

سماد كبريتات الألمونيوم ($Al_2(SO_4)_3$) هو ملح يعرف بالـalum أى الشبة يحتوى هذا السماد على ٤١,٤% من الكبريت (S) . ويستعمل لتصحيح درجة تفاعل التربة وسد النقص بالحديد الجاهز . هذا السماد لا يعمل على تزويد الحديد بل يعمل على زيادة درجة حموضة التربة وهذا يؤدى إلى زيادة كمية الحديد الجاهز إذ أن الحديد تزداد جهازيته فى التربة الحامضية .

$$Al_2(SO_4)_3 + 6H_2O \longrightarrow 2Al(OH)_3 + 3H_2SO_4$$

قد يستعمل هذا السماد (الشبة) فى تصفية وتنقية المياه ، وذلك لأن $Al(OH)_3$ الناتجة من تفاعل هذا السماد مع الماء تتفاعل مع الشحنات السالبة للطين والمادة العضوية الذائبة فى الماء (عملية الإدمصاص) ويجعلها مادة غير ذائبة مترسبة فى أحواض التصفية والتى تسمى بالمروقات .

٧- سماد السوبر فوسفات :

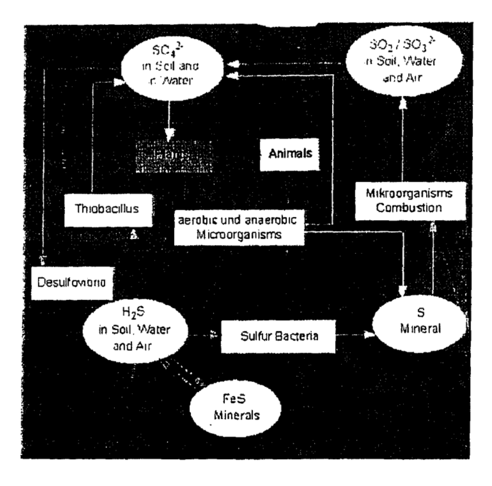
سماد مركز Superphosphate يحتوى على ١٧% P (٤٠% P_2O_5) و٢٠% كبريت (S) ويصنع هذا السماد بمزج الكبريت السائل بالسوبر فوسفات المركز .

٨- سماد Ammonium polysulfide

هذا السماد سائل $((NH_4)S_x)$ يحتوى على ٢٠% نيتروجين و٤٠% كبريت (S) ويصنع من تفاعل الأمونيا مع كبريتيد الهيدروجين كما فى المعادلة الآتية :

$$2NH_3 + H_2S \longrightarrow (NH_4)S_x$$

ويمكن أن يضاف هذا السماد مباشرة إلى التربة او يمزج مع الأسمدة السائلة أو يضاف إلى مياه الرى . ويبين شكل رقم ٢١ التحولات الميكروبيولوجية للمركبات الكبريتية فى التربة الزراعية



شكل رقم ٢١ : التحولات الميكروبيولوجية للمركبات الكبريتية فى التربة الزراعية

الفصل السابع :

التحولات الميكروبية للمركبات الفوسفورية في التربة الزراعية

Microbial Transformations of Phosphorus Compounds in Soil

الفصل السابع

التحولات الميكروبية للمركبات الفوسفورية فى التربة الزراعية

Microbial Transformations of Phosphorus Compounds in Soil

يعتبر الفوسفور من العناصر الغذائية الضرورية للنبات وذلك لدوره المباشر فى معظم العمليات الحيوية حيث لا يمكن أن تجرى أى من العمليات الحيوية داخل الخلية النباتية بدونه. ويوجد الفوسفور بالتربة الزراعية بكميات أقل بكثير من كمية النيتروجين أو كمية البوتاسيوم. ويوجد الفوسفور فى القشرة الأرضية بنسبة تصل إلى حوالى ٠,١١% تكون مرتبطة بمادة التربة العضوية. وتختلف نسبة الفوسفور فى التربة حسب نوعها ودرجة الحرارة ، والمحتوى الرطوبى وكذلك عمر التربة ، تكون كمية الفوسفور الكلى فى التربة المعدنية قليلة نسبياً . وبصورة عامة يكون محتوى التربة ذات النسيج الخشن من الفوسفور الكلى أقل من محتوى التربة ذات النسيج الناعم الموجودة فى نفس الظروف الجوية . أما التربة العضوية فإن محتواها من الفوسفور الكلى يكون أعلى من محتوى التربة المعدنية وتزداد نسبته فى الطبقة السطحية للتربة بسبب إرتفاع معدل تحلل المادة العضوية فيه . كذلك فإن تربة المناطق الجافة وشبه الجافة يكون محتواها من الفوسفور الكلى أقل من محتوى التربة فى المناطق الرطبة المتشابهة فى التركيب . ويوجد الفوسفور فى التربة الزراعية على صورتين هما الفوسفور المعدنى والفوسفور العضوى .

١- الفوسفور المعدنى Inorganic phosphorous

يوجد الفوسفور المعدنى في التربة الزراعية فى صورة فوسفات معدنى مرتبط بالكالسيوم أو الحديد أو الألمونيوم أو قد تكون مدمصة على الجزيئات الغروية بالتربة الزراعية.

عند التسميد الفوسفورى للأراضى فإن الفوسفور القابل للاستفادة بواسطة النبات يتعرض لتحولات تتوقف على درجة pH التربة ، ففى الأراضى القاعدية نجد أن فوسفات الكالسيوم الأحادى المضافة الذائبة والصالحة للنباتات تتحول بسرعة إلى الحالة الثلاثية غير الذائبة والتى تترسب مما يجعلها أقل صلاحية للنباتات. ولكن وبالرغم من أنها تترسب فى صورة غشاء رقيق حول الحبيبات فإن لها سطحا نوعيا كبيرا جدا ما يعطى الميكروبات وجذور النباتات فرصة كبيرة لتحولها إلى الصورة الذائبة مرة ثانية. أما الأراضى الحامضية ذات الـpH المنخفض فإن الفوسفات الذائبة تترسب فى صورة فوسفات حديد أو ألمونيوم وهذه تكون شديدة المقاومة لعملية الإذابة مما يؤدى لظهور أعراض نقص الفوسفور وذلك ما لم تسمد بكميات كبيرة من الأسمدة الفوسفاتية أو التسميد الورقى . ويمكن تقسيم مركبات الفوسفور المعدنى المترسبة فى التربة إلى ثلاثة أقسام رئيسية هى :

أ- فوسفات الحديد والألمونيوم Fe-Al phosphate ومن المركبات التابعة لهذا القسم هى : Wavellite $Al_3(PO_4)_2(OH)_3.5H_2O$ ، Variscite Al $PO_4.2H_2O$ و Strengite $FePO_4.2H_2O$ وأن ترسبات هذه المركبات تكون ثابتة في الأراضى الحامضية وهى غير قابلة للذوبان.

ب- فوسفات الحديد - الألمونيوم - الكالسيوم Ca-Fe-Al-Phosphate

ومن أهم معادن هذا القسم هى:

Crandallite $CaAl_3(PO_4)_2(OH)_5.H_2O$

Millisit $(Na,K)CaAl_6(PO_4)_4(OH)_9.3H_2O$

وهذه المعادن تكون عادة متحدة بعضها ببعض بمركبات أقسام الفوسفور الأخرى.

ج- فوسفات الكالسيوم Ca-phosphate

من أهم مركبات فوسفات الكالسيوم الموجودة في التربة هى :

Carbonate apatite $3Ca(PO_4)_2.CaCO_3$ ، Fluorapatite $Ca_{10}(PO_4)_6F_2$ ، Oxy apatite $3Ca_3(PO_4)_2CaO$ ، Hydroxy apatite $3Ca(PO_4)_2.Ca(OH)_2$ ، Dicalcium phosphate $CaHPO_4$ ، Tricalcium phosphate $Ca_3(PO_4)_2$ ، Monocalcium phosphate $Ca(H_2PO_4)_2$.

هذا ويعد معدن الأباتيت هو المعدن الرئيسى الذى يحتوى على الفوسفور في تركيبه ، وهو يوجد في كل الظروف الجيولوجية التى تكون الصخور النارية، والمتحولة والمترسبة ، ويعد الأباتيت المترسب المصدر الرئيسى للفوسفور الصناعى . وتعد فوسفات الكالسيوم الأحادية $CaHPO_4$ والثنائية $Ca(H_2PO_4)_2$ أكثر جهازية للنبات ثم يتبعها من حيث معدل الذوبان فوسفات الكالسيوم الثلاثية Oxy apatite و Hydroxy apatite و Carbonate apatite. وكذلك Fluorapatite التى تعد أقل فوسفات الكالسيوم ذوبانا فى التربة وهى غير جاهزة للنبات.

٢- الفوسفور العضوى Organic phosphorous

يوجد فى التربة بنسبة ١٥-٨٥% من الفوسفور الكلى ويوجد الفوسفور على الصورة العضوية في التربة من بقايا النباتات وأجسام الميكروبات ويوجد في العديد من المركبات العضوية مثل الأحماض النووية – الفسفولبيدات – الفيتين – الليسيثين – المرافقات الإنزيمية . يوجد الفوسفور في المركبات العضوية في الصورة المؤكسدة (PO_4^{---}) ويوجد الفوسفور في الأراضى المصرية في صورة فوسفات كالسيوم ثلاثية $Ca_3(PO_4)_2$ غير الذائبة .

ومن الوظائف الحيوية للفوسفور أنه يشارك في تحليل الكربوهيدارت والمواد الأخرى الناتجة عن عملية التمثيل الضوئى لتحرير الطاقة اللازمة للعمليات الحيوية للنبات . كما أنه يساعد في عملية تكوين وإنقسام الخلايا علاوة على أنه يعمل على المشاركة الفعالة في نقل الصفات الوراثية عن طريق DNA ، حيث يشارك في تركيب العديد من المركبات التى تسهم في تكوين RNA مثل UTP ، ATP ، CTP ، GTP . لذلك فإن نقص الفوسفور يؤدى إلى ظهور أعراض على الأوراق القديمة ذات اللون الأخضر الداكن . ويشوب اللون البنى أوراق أشجار الفاكهة وتسقط قبل إكتمال نضجها وتتلون سيقان النباتات الحولية بلون محمر ناتج عن تكوين مادة الأنثيوسيانين . كما تظهر أشجار الفاكهة تناقصاً في معدلات نمو الأغصان الحديثة . علاوة على تكون ثمار وبذور غير جيدة في حالة نقص الفوسفور .

تحولات الميكروبية للمركبات الفوسفوريه في التربة :

Microbial Transformations of Phosphorus Compounds in Soil

تقوم الميكروبات بدور حيوى في إذابة الفوسفات المعدنية غير الذائبة في التربة الزراعية وتحويلها إلى انصورة الجهازية . للميكروبات الهتيروتروفية دوراً رئيسياً في معدنة الفوسفور العضوى وتحويله إلى الصورة المعدنية الجاهزة للنبات . وتحتاج الميكروبات إلى فوسفات لبناء أجسامها لذلك تلجأ إلى الفوسفات المعدنية الذائبة في التربة وتحويلها في أجسامها إلى فوسفات عضوية خلال عملية Immobilization علاوة على قيامها بأكسدة أو إختزال المركبات الفوسفورية غير العضوية في التربة . تعتبر التفاعلات المؤدية إلى معدنة أو تمثيل الفوسفور من أهم الخطوات التى تتم في دورة الفوسفور في الطبيعة.

١ - إذابة الفوسفات المعدنية : Solubilization of organic phosphorus

يعتبر Saket *et al.*, 1908 أول من تمكن من ملاحظة وجود الميكروبات المذيبة للفوسفات معمليا وهذه الميكروبات يمكنها إذابة فوسفات الكالسيوم الثلاثية وتحويلها إلى الصورة الأحادية القابلة للإستفادة. وتمكن العلماء من تفسير قابلية هذه الميكروبات لإذابة الفوسفات حيث أنها تنتج ثانى أكسيد الكربون أثناء نشاطها بالإضافة إلى إفرازها للعديد من الأحماض العضوية من بينها حامض الفورميك – الخليك – البروبيونيك – الستريك واللاكتيك وعيرها وهذه الأحماض لها القدرة على إذابة الفوسفات المعدنية غير الذائبة . كذلك وجد أن الأحماض العضوية من نوع Alpha hydroxyl acids تكون أفضل من غيرها على إذابة الفوسفات. وتعمل الأحماض العضوية وغير العضوية على تحويل $Ca_3(PO_4)_2$ إلى فوسفات ثنائى

وأحادى وتكون المحصلة النهائية لذلك هو توفر هذا العنصر فـي صـورة ميسرة للنبات .

ولقد لوحظ أن تكون الإذابة أكثر تحت الظروف الهوائية ، عـلاوة على أن تحلل المواد العضوية يخفض درجة جهد الأكسدة والإختزال (EH) في التربة مما يؤدى إلى تحول الحديديك إلى حديدوز ذائب وهذا يساعد على قابلية الإستفادة من الفوسفات ويظهر تأثير الظروف اللاهوائية بوضوح على الأراضى المنزرعة بالأرز تحت نظام الغمر .

٢- إذابة الفوسفات غير العضوية :

Solubilization of inorganic phosphorus

وجد أن ١٠% إلى ٥٠% من العزلات البكتيرية المختبرة لديها القدرة على إذابة مركبات فوسفات الكالسيوم وأن أعداد هذه البكتيريا تتـراوح بـين ١٠^٥^–١٠^٧^ جرام تربة جافة . وتتواجد هذه البكتيريا بوفرة على سطوح الجذور وفى منطقة الريزوسفير ، وقد وجد أن أنواع الميكروبات النشـطة فـي هـذا المجال هى البكتيريا المتجرثمة مثل *Bacillus* sp. والبكتيريا الكرويـة مثـل *Micrococcus* sp. ، *Mycobacterium* sp. ومن البكتيريا العصوية القصيرة *Pseudomonas* sp. ، *Flavobacterium* sp. ومـن الفطريـات *Aspergillus* sp. ، *Fusarium* sp. ، *Sclerotium* sp. ، *Penicillium* sp. بالإضافة إلى غيرها من الأجناس الأخرى وتنمو هذه البكتيريا والفطريات في منابت غذائية معملية تحتوى على فوسفات الكالسيوم الثلاثيـة غيـر الذائبـة $Ca_3(PO_4)_2$ ولا يقتصر فعل هذه الميكروبات على مجرد القيام بتمثيـل هـذا العنصر بل أنها تقوم بتحويل جزء كبير منه إلى الصـورة الذائبـة بكميـات تتجاوز إحتياجاتها الغذائية منه وبذلك يكون الزائد عن حاجتها موجـوداً فـي

الوسط المحيط بالميكروب . ويعتبر قيام الميكروبات بإنتاج الأحماض العضوية هو الوسيلة الأساسية التى تمكن الكائنات الحية الدقيقة من تحويل مركبات الفوسفور غير الذائبة إلى الصورة الذائبة الصالحة لإحتياج النبات .

ولقد وجد أنه عند تحضير خليط من التربة أو السماد العضوى مع الكبريت المعدنى وصخر الفوسفات فإن إستمرار عملية أكسدة الكبريت إلى حامض كبريتيك بواسطة البكتيريا من جنس *Thiobacillus* يصاحبها زيادة في حموضة المخلوط مع إنتاج الفوسفات الذائبة . وقد يعمل تواجد الكثير من الكائنات الدقيقة المذيبة للفوسفات في منطقة الريزوسفير Rhizosphere على الإسراع من تمثيل النباتات الراقية لعنصر الفوسفور.

تلقيح التربة بالميكروبات المذيبة للفوسفات :

Soil inoculation with phosphate solubilizing bacteria

قامت دراسات عديدة بغرض تحضير لقاح بكتيرى له تأثير مشجع على نمو النباتات وإذابة الفوسفات غير القابلة للذوبان وأعطى لهذا اللقاح اسم Phosphobacterin . وهو عبارة عن سلالة بكتيرية لميكروب *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* محملة على حامل من الكاؤلينايت Kaolinite أو مادة عضوية ويتم ذلك بتلقيح البذور أو الجذور أو التربة، ولقد طبق ذلك على نطاق واسع وقد أعطى نتائج محمودة واعدة .

تتم معدنة الفوسفور في الأراضى البكر أسرع منها في تلك الأراض المنزرعة. وبالإضافة إلى زيادة الكمية الكلية التى تتم معدنتها في الأراضى البكر فإن النسبة المئوية للفوسفور العضوى الكلى الذى يتم تحويله تكون الأخرى أكبر في الأراضى البكر عنها في تلك الأراضى المنزرعة. تناسب

درجات الحرارة المرتفعة عمليات التحلل كما أن المدى الحراري المرتفع المناسب للميكروبات المحبة للحرارة العالية يعتبر أكثر ملائمة من المدى الحراري المتوسط . وتنشط معدلات معدنة الفوسفور نتيجة التعديل في درجة حموضة التربة إلى الحد الملائم لعمليات التمثيل الغذائي الميكروبي بوجه عام، وأن تحويل رقم الأس الأيدروجيني للتربة من الحموضة إلى ناحية التعادل يزيد من معدل إنتاج الفوسفات . أضف إلى ذلك أن معدل المعدنة يرتبط مباشرة بكمية المادة المتحولة وعلى ذلك فإن النشاط في الأراضي الغنية بالفوسفور يتم بمعدلات أعلى . ووجود الفوسفور غير العضوي لا يعمل على تثبيط عملية المعدنة فهي تستمر بسرعة حتى في الأماكن التي يتوفر بها الفوسفات وكما هو متوقع، فإن امتصاص النباتات لعنصر الفوسفور يكون مرتبطا مع معدل معدنة هذا العنصر. وترتبط كل من عمليتي معدنة وتمثيل هذا العنصر بنفس التفاعلات المناظرة الخاصة بعنصر النيتروجين ، وكقاعدة عامة فإن معدل تكوين الفوسفات يزيد تحت نفس الظروف الملائمة لعملية النشدرة. لهذا فقد لوحظ إرتباط مؤكد بين معدلات تحويل كل من النيتروجين والفوسفور إلى الصورة غير العضوية .

معدنة الفوسفور العضوي

Mineralization of organic phosphorous

يوجد الفوسفور في النباتات في صورة مركبات مختلفة مثل الأحماض النووية والفوسفولبيدات والفيتين والليسيثين والسكريات المفسفرة والمرافقات الإنزيمية وفوسفات الأدينوسين مثل ADP ، ATP . ويوجد الفوسفور في المركبات العضوية في الصورة المؤكسدة (PO_4^{-}) رغم أن كل من الفيتين والأحماض النووية إذا أضيف للبيئات الغذائية فإنها تتمعدن بسرعة وتتحول

إلى صورة فوسفات جاهزة للنبات إلا أن الوضع يختلف كثيراً عند إضافتها للتربة حيث أن قابليتها للتحلل والتحول إلى الصورة الجاهزة للنبات تقل كثيراً. وهذا الإختلاف يرجع إلى التفاعلات التى تتم بين هذه المركبات الفوسفورية العضوية وبين كثير من مركبات التربة ، وكذلك تتأثر بدرجة حموضة الوسط. هذا ويسلك الفيتين مسلك الفوسفات غير العضوية في تفاعلاته مع الكالسيوم والحديد والألومنيوم في التربة . وفى التربة الحامضية فإنه يكون مرتبطاً في صورة معقد مع الحديد والألمونيوم . وهذه الأملاح تكون قابليتها للذوبان قليلة بدرجة كبيرة حتى أنها تكون أقل ذوباناً من فوسفات الحديد والألمونيوم المعدنية في هذه التربة . أما في التربة القاعدية فإن الفيتين يوجد في التربة على صورة فيتات كالسيوم أو ماغنسيوم وهذه وأن كانت قليلة الذوبان إلا أن مقاومتها للتحلل الميكروبى أقل من فوسفات الحديد أو الألمونيوم. والفيتين من الناحية الكيماوية عبارة عن Inositol hexaphosphate وفى الظروف المناسبة يتحلل ميكروبياً بواسطة إنزيمات Phytase الذى تستطيع كثير من ميكروبات التربة إنتاجها كما في المعادلة :

$$\text{Phytic acid} + 6H_2O \xrightarrow{\text{phytase}} \text{Inositol} + 6H_3PO_4$$

يعتبر نشاط إنزيم الفيتيز من النشاطات واسعة الإنتشار في التربة الزراعية حيث أن حوالى ٣٠% إلى ٥٠% من الميكروبات المعزولة من التربة يمكنها تخليق هذا الإنزيم ، كما يزداد نشاط هذه الميكروبات في الطبيعة عند إضافة المواد الكربوهيدراتية التى تعمل على زيادة كثافتها العددية. وقد وجد أن أنواع الميكوربات القادرة على تخليق هذا الإنزيم تتبع أجناس *Rhizopus* ، *Penicillium* ، *Aspergillus* ، *Bacillus* ، *Pseudomonas* ، *Streptomyces* ، *Arthrobacter* مع ذلك فإنه على الرغم من وجود النشاط

الكامن لإنزيم الفيتيز بدرجة عالية فإنه لا يحدث تمثيل لمركبات الفيتين بكثـرة في التربة. ويبدو أن قدرة الكائنات الدقيقة المنتجة لإنزيم الفيتيز ، وهى قـدرة عالية بالفعل ، ليست هى العامل المحدد لحدوث عمليات التحلل المـائى لهـذا المركب بل أن قلة حدوث مثل هذا التحلل في التربة يرجع إلى وجود حامض الفيتيك بكميات صغيرة في محلول التربة .

بالنسبة للفوسفولبيدات فهى عبارة عن مركبات من اللبيدات مرتبطة مع الفوسفات ويؤدى التحلل البيولوجى لها إلى تحرر الفوسفات منها بواسطة إنزيمات Phosphatase . وهناك قسم خاص مـن الفسـفولبيدات يتضـمن الليسيثين والسيفانين وتوجد فيها الفوسفات في صورة رابطة إستر مع قاعدة هيدروجينية لذلك فإن تحلل الليسيثين بيولوجيا يعطى جليسـرول وحـامض أمينى وحامض دهنى وفوسفات وقاعدة نيتروجينية .

تقوم بعض البكتيريـا والفطريـات والأكتينوميسـيتات باسـتخدام الفوسفولبيدات كمصادر للفوسفور . يمكن استخدام الليثيسين كمـادة مناسـبة لتقدير نشاط الميكروبات في تحليل هذه المركبات حيث أن الفوسفات في هذا المركب العضوى تنفصل منه ثم تقوم الميكروبات المسئولة عن ذلك بتمثيلها. ولما كانت كمية الفوسفور الناتجة تتجاوز إحتياجات الكائنـات غيـر ذاتيـة التغذية ، فإن جزءاً منه سوف يصبح ميسراً لإمتصاص النبات أيضاً .

أما الأحماض النووية فإنها تعتبـر أسـرع المركبـات الفوسـفاتية العضوية تحللاً في التربة ويمكن تفسير ذلك على أساس أن الأحماض النووية تتميز باحتواءها على كلا من الكربون والنيتروجين والفوسفور في تركيبهـا مما يشجع نمو الميكروبات التى تقوم بتحليلها بواسطة إنزيمات Nucleases. والأحماض النووية وعند تحليلها ميكروبيا تتحلل أولا إلى مكوناتها الأساسية

وهى قواعد نيتروجينية مثل قواعد البيورين والبيرميدين وسكريات خماسية. ولقياس قدرة الميكروبات على تحليل الفوسفات العضوية في التربة يستخدم معدل نشاط إنزيم Phosphatase كدليل على مقدرة الميكروبات على إذابة الفوسفات حيث أن هذا الإنزيم يفكك رابطة الاستر بين مجموعات الفوسفات وباقى المركبات العضوية مما يحرر الفوسفات إلى صورة معدنية قابلة للإستفادة بواسطة النبات حيث يجرى الإنزيم التفاعل التالى :

$$R\text{-}O\text{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{P}}\text{-}OH + H_2O \xrightarrow{\text{Phosphatase}} R\text{-}OH + OH\text{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{P}}\text{-}OH$$

تمثيل الفوسفور في أجسام الميكروبات P-immobilization

تحتاج الميكروبات إلى الفوسفور لبناء أجسامها مثل غيرها من الأحياء ولذلك فإن توفير هذا العنصر في صورة ملائمة يكون ضرورياً لقيام الميكروبات بوظائفها الحيوية. وتحت الظروف العادية فإن كمية الفوسفور الجاهزة في التربة تكون كافية للنشاط الميكروبى ولكن عند إضافة مادة عضوية غنية بالكربون سهلة التحلل وفقيرة في الفوسفور فإن الميكروبات لا تجد ما يكفيها من الفوسفور لبناء أجسامها من هذه المادة وبذلك فإنه أثناء التحلل لا يحدث معدنة لكميات الفوسفور القليلة الموجودة في تلك المادة العضوية حيث تمثلها الميكروبات فى أجسامها وإن لم تكفيها فإنها تلجأ إلى الفوسفور المعدنى الذائب والميسر في التربة لاستكمال إحتياجاتها من الفوسفور مما يقلل الفوسفور الجاهز للنبات في التربة . وقد يتأثر المحصول من ذلك لحد كبير وتسمى هذه العملية باسم تثبيت الفوسفور في أجسام الميكروبات Immobilization . أما إذا أضيفت للتربة مادة عضوية غنية

بالفوسفور فإن الميكروبات أثناء تحليلها لهذه المادة سوف تجد ما يكفيها من الفوسفور وزيادة وبذلك لا تحدث عملية Immobilization للفوسفور الجاهز ولكن تحدث معدنة Mineralization وعلى ذلك فإن العامل الأساسى الـذى يتحكم في عملية المعدنة او الفقد للفوسفور أثناء تحلل أى مادة عضوية هـو نسبة الفوسفور في هذه المادة . فإذا كانت نسبة الفوسفور في المادة العضوية مرتفعة أى أن نسبة الكربون إلى الفوسفور تكون صـغيرة أو ضـيقة فـإن الفوسفور الموجود فيها يكون أكثر من إحتياجات الميكروب ولـذلك تحـدث المعدنة والعكس صحيح.

كذلك وجد أن الفوسفور يمثل ٠,٥% من وزن الميسـليوم الجـاف للفطريـات، ١-٣% مـن الـوزن الجـاف للخلايـا البكتيريـة وربمـا الأكتينوميسيتات. ويمكن إعتبار أن كميـة الفوسـفور اللازمـة لوصـول الميكروب لأقصى درجات النمو هى ٠,٣% بالوزن من المادة العضوية.

تفاعلات الأكسدة والإختزال لمركبات الفوسفور في التربة

Oxidation reduction reactions of phos. Compounds in soil

تعتبر تفاعلات الأكسدة في حالة مركبات الفوسفور العضوية ليس لها أهمية حيث أن الفوسفور يوجد في المركبات العضوية في صـورة H_3PO_4 وعندما يتحرك من المادة العضوية فإنـه يتحـرك فـي صـورة حـامض أرثوفوسفوريك الجاهزة للنبات مباشرة . ويمكن الاسـتدلال علـى حـدوث الأكسدة الحيوية للمركبات الفوسفورية المختزلة عند إضافة الفوسـفات إلـى التربة ، فيختفى هذا المركب ويصاحب ذلك زيادة تركيز الفوسـفات. أمـا تفاعلات الإختزال فإن أهميتها في دورة الفوسفور محدودة ومع ذلـك فـإن

إختزال الفوسفات يمكن أن يتم بدرجة محدودة تحت الظـروف اللاهوائيـة وعند توفير مواد قابلة للأكسدة بنسبة كبيرة يتم الإختزال على النحو التالى :

$$\underset{\text{Phosphate}}{H_3PO_4} \xrightarrow{2H} \underset{\text{Phosphite}}{H_3PO_3} \xrightarrow{2H} \underset{\text{Hypoposphite}}{H_3PO_2} \xrightarrow{2H} \underset{\text{Phosphine}}{PH_3}$$

ولقد أوضحت الدراسات إحتواء الأراضى المصرية على أعداد كبيرة من الميكروبات المذيبة للفوسفات تصل إلى عدة ملايين لكـل جـرام تربـة جافة. وتزداد هذه الأعداد في الأراضى الخصبة وتقل في الأراضى الملحية والقلوية وتوجد بكثافة في الأراضى المنزرعة بالبقوليات خاصة في منطقـة الريزوسفير . كما تلعب الميكورهيزا دوراً ملموسـاً فـي إمـداد النباتـات المتعايشة معها بالفوسفور الميسر . علاوة على أن وجود الميكروبات المذيبة للفوسفات بكثافة عالية في الأراضى المصرية يلعب دوراً مؤثراً في إنتاجيـة هذه الأراضى . ولقد وجد أن تلقيح التربة أو البذور بالسلالات المحلية ذات الكفاءة العالية في إذابة الفوسفات يزيد مـن نمـو النباتـات وإمتصاصـها للفوسفات . ولقد وجد أيضاً أن أكثر انواع الميكروبات إنتشاراً ذات الكفـاءة العالية في تحليل الفوسفات العضوى والمعدنى في الأراضى المصرية هـى الأنواع المتجرثمة التى تتبع جـنس *Bacillus* وأهمهـا النـوع *Bacillus megatherium* وكذلك الأنواع التى تتبع جنس *Streptomyces* .

إحتفاظ التربة بالفوسفور :

ويقصد باحتفاظ التربة بالفوسفور هو ذلك الجزء من الفوسفور الذى يحمل ويكون مرتبطاً بصورة ضعيفة بحبيبات التربة والذى يمكن استخلاصه

بحامض مخفف ويكون هذا الجزء جاهزاً وميسراً للنبات . ولقد وجد أن ميكانيكية إحتفاظ التربة بالفوسفور تضم تفاعلات عديدة وهى:

أولاً : إحتفاظ التربة الحامضية بالفوسفور

١- صورة أكاسيد الحديد والألمونيوم

إن الأكاسيد المائية لهذه المعادن قد توجد بصورة منفردة أو على شكل مواد مغلفة لحبيبات التربة حيث تتفاعل مع الفوسفور الذائب في محلول التربة الحامضية على صورة H_2PO_4 وينتج عنه فوسفات الحديد أو الألمونيوم المرتبطة بالمعادن وبذلك يتحول الفوسفور الذائب الميسر للنبات إلى فوسفور غير ذائب.

٢- صورة أيونات الحديد والألمونيوم

في التربة الحامضية ذات درجة الـpH المنخفض يزداد تركيز أيونات الحديد والألمونيوم في محلول التربة التى تقوم بدورها بالتفاعل مع الفوسفور الموجود على صورة H_2PO_4 الذى يكون بصورة ذائبة وجاهزة للإمتصاص بواسطة النبات . ونتيجة هذا التفاعل يتحول الفوسفور الذائب والجاهز إلى فوسفور غير ذائب مترسب وغير جاهز للإمتصاص بواسطة النبات على شكل فوسفات الحديد والألمونيوم وبذلك يترسب فوسفور التربة .

٣- التثبيت في الطين السليكاتى

يمكن لفسفور التربة الذائب أن يتحد بمعادن الطين مثل الكاؤلينيت ، المونتمورولنيت والأليت في التربة المتوسطة الحموضة وهذا يحصل إما عن طريق إزاحة مجاميع الهيدروكسيل من على سطح بلورات معادن الطين ويحل محلها الفوسفور الذائب . إن بعض معادن الطين تحتفظ أو تثبت

الفوسفور بكميات أكبر من الكميات التى تثبتها بعض معادن الطين الأخرى . والطريقة الأخرى للإحتفاظ تكون عن طريق إرتباط الكالسيوم الموجود على سطوح معادن الطين بصورة متبادلة مع الفوسفور الذائب في محلول التربة وبذلك تتكون رابطة من الطين–الكالسيوم–الفوسفور . ومثل هذا الإحتفاظ يسود في بعض معادن الطين .

ثانياً : إحتفاظ التربة القاعدية بالفوسفور

وجد أن تفاعلات الفوسفور الموجودة في محلول التربة القاعدية تؤدى إلى إنخفاض جهازية الفوسفور ودرجة تيسره للنبات كما يلى :

١- الترسيب على شكل فوسفات الكالسيوم الثنائية

يزداد نشاط وتركيز أيونات الكالسيوم في التربة القاعدية التى تؤدى إلى تقليل جهازية الفوسفور وذلك بتحويله من صورة ذائبة إلى صورة غير ذائبة . وهذا يكون عن طريق تفاعل أيونات الكالسيوم الموجودة في محلول التربة مع الفوسفور الموجود بصورة HPO_4 وترسيبه على شكل فوسفات الكالسيوم الثنائية أو فوسفات الكالسيوم الثلاثية وبهذا تقل درجة ذوبان وجهازية الفوسفور في التربة . هذا ومن المعروف أن درجة ذوبان فوسفات الكالسيوم الأحادية تكون أكبر من درجة ذوبان فوسفات الكالسيوم الثنائية التى بدورها تكون درجة ذوبانها أكبر من فوسفات الكالسيوم الثلاثية .

٢- الترسيب على سطح حبيبات كربونات الكالسيوم

تقل جهازية الفوسفور في التربة القاعدية التى تحتوى على كربونات الكالسيوم بصورة حرة وذلك بسبب ترسب أيونات الفوسفور التى تكون قريبة

من حبيبات كربونات الكالسيوم الحرة على سطوح حبيبات كربونات الكالسيوم وتركيز الفوسفور الذائب في محلول التربة.

٣- إحتفاظ معادن الطين بالفوسفور

قد يحصل إحتفاظ للفوسفور الذائب في محلول التربة القاعدية والمشبعة معادنها الطينية بالكالسيوم على سطوح معادن الطين هذه عن طريق تكوين رابطة من الطين – الكالسيوم – الفوسفور كما يحصل في التربة الحامضية. وبذلك يقل تركيز الفوسفور الذائب في التربة ويكون علاج ذلك بإضافة كميات كبيرة من الأسمدة الفوسفاتية من أجل المحافظة على مستوى نشاط جيد وملائم لنمو النبات في التربة .

حفظ فوسفور التربة

لأهمية حفظ عنصر الفوسفور من حيث جهازيته وتأثيره على خصوبة التربة وتغذية النبات ، فيجب التعرف على العوامل التى تؤثر في حفظ الفوسفور في التربة ومنها كمية الطين ونوعيته حيث تؤدى زيادة نسبة الطين في التربة إلى زيادة الإرتباط بين فوسفور محلول التربة ومعادن الطين وهذه الزيادة في الطين تؤدى إلى زيادة درجة إحتفاظ التربة بالفوسفور. كذلك يلعب زمن التفاعل بين الفوسفور والتربة دوراً هاماً حيث وجد أن تعرض الفوسفور المضاف للتربة لفترة زمنية طويلة يؤدى إلى زيادة-درجة إحتفاظ التربة بالفوسفور وبذلك تزداد الكمية المحتفظ بها منه. ولذلك لا ينصح بإضافة الفوسفور إلى التربة دفعة واحدة بحيث تكون جذور النباتات قادرة على إمتصاصه وكذلك يجب إضافة السماد الفوسفاتى بطريقة النثر حيث يؤدى لزيادة الإحتفاظ به . أما من حيث درجة تفاعل التربة فقد

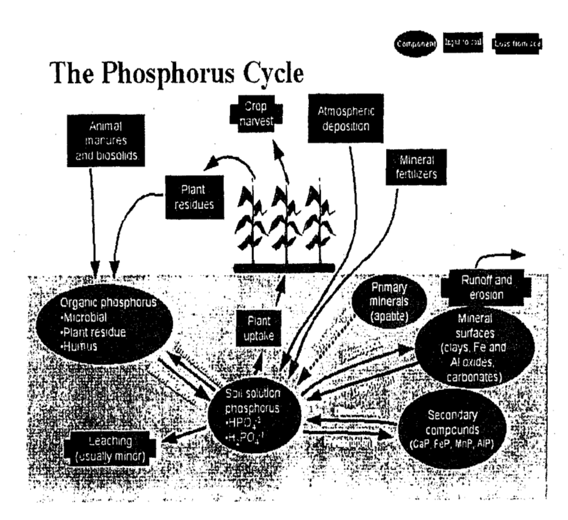
وجد أن الدرجة من ٥,٥–٧ أفضل لتيسير فوسفور التربة للنبات وتقل الجهازية في حالة إنخفاض أو إرتفاع درجة تفاعل التربة .

ولقد وجد أن إرتفاع درجة الحرارة يشجع التفاعلات الكيماوية ويزيد معدلها حيث تكون درجة إحتفاظ التربة بالفوسفور تزداد في تربة المناطق الحارة أو الدافئة وكذلك لإرتفاع نسبة أكاسيد الحديد والألمونيوم في تربة المناطق الحارة والدافئة. وكذلك لإرتفاع نسبة أكاسيد الحديد والألمونيوم في تربة المناطق الحارة أو الدافئة . أما من حيث المادة العضوية فقد وجد أن زيادة محتوى التربة من المادة العضوية يؤدى إلى زيادة جهازية عنصر الفوسفور في التربة وذلك عن طريق تقليل تعرض الفوسفور للعوامل التى تساعد على حفظه وترسيبه وكذلك بإزاحة الفوسفور المحتفظ به وتيسيره للنبات حيث وجد أن تحلل المادة العضوية بواسطة الكائنات الحية الدقيقة ينتج حامض الكربونيك الذى يعمل على إذابة عدد من المركبات الفوسفاتية غير الذائبة فيزيد الفوسفور الذائب في التربة .

$$\text{Organic carbon} \longrightarrow CO_2 + H_2 \rightleftharpoons H_2CO_3$$

وأن مادة الدبال الناتجة من تحلل المادة العضوية تزيد من جهازية الفوسفور للنبات حيث يكون تفاعل الدبال مع الفوسفور معقد Phosphohumic يكون أكثر جهازية للنبات من المركبات الأخرى وخاصة في التربة الكلسية . أما في حالة فوسفور التربة فقد وجد أن التربة المشبعة بالفوسفور نتيجة الإضافات المستمرة وأن الفوسفور الذى يضاف إلى التربة بعد حالة التشبع يكون في حالة ميسرة للنبات ومن هذا يجب تحديد كمية السماد الفوسفاتى المضاف للتربة المشبعة والغير مشبعة بالفوسفور. ويبين

شكل رقم ٢٢ التحولات الميكروبيولوجية للمركبات الكبريتية فى التربة الزراعية



شكل رقم ٢٢ : التحولات الميكروبيولوجية للمركبات الفوسفورية فى التربة الزراعية

الفصل الثامن :

التحولات الميكروبية لمركبات الحديد فى التربة الزراعية



Microbial Transformations of Iron Compounds in Soil



الفصل الثامن

التحولات الميكروبية لمركبات الحديد فى التربة الزراعية

Microbial Transformations of Iron Compounds in Soil

يعتبر عنصر الحديد ضروريا لنمو النبات ، حيث أنــه يــدخل فــي تركيب بعض المركبات الخلوية المهمة في نظام الأكسدة والإختــزال مثــل البروتينات الهيمية Hem protein . هناك أيضا نظام الســيتوكروم والــذى يغير حالة الحديد بين حالة التأكسد الثنائية Fe^{+2} والثلاثية Fe^{+3} في سلســلة نقل الإلكترونات في عمليتي البناء الضوئى والتنفس الخلوى الهوائى ونظــام الأكسدة والإختزال وكذلك الإنزيم المسئول عن إختزال النترات والبروتينات غير الهيمية Nonhem protein . وتعرف البروتينات غير الهيميــة أيضــا بالبروتينــات الكبريتيــة الحديديــة Iron-sulfur protein ومــن أشــهرها الفيرودكسين Ferredoxin الذى يعمل كناقل للإلكترونات فــي عــدد مــن عمليات الأيض مثل عملية البناء الضــوئى وتثبيــت النيتــروجين وإنــزيم الأكونينيز في دورة كربس . يدخل الحديد أيضاً في تركيب بعض الإنزيمات مثل البيروكسيديز Peroxidase والكتاليز Catalase وبعــض المؤكســدات الحيوية خاصة الفلافوبروتينات المعدنية Metal flavoproteins . من ناحية أخرى فإن الحديد مهم لبناء بعض البروتينات في البلاستيدات الخضراء التى لها دور هاماً في عملية بناء الكلوروفيل رغم أنه لا يدخل في تركيبه . هــذا ويمتص الحديد من التربة الزراعية بصورة رئيسية في حالة ثنائية الأكســدة (Fe^{+2}) ولكن أحيانا قد يمتص على الصورة الثلاثية (Fe^{+3}) حســب درجــة

توفره في التربة الزراعية . وتسهم المركبات المخلبيـة الطبيعيـة كـبعض المركبات الفينولية مثل الكاتيكول Catecool التى تفرزها البكتيريا أو بعض البروتينات مثل الهيدروكسـيمات hydroximates التـى تفرزهـا بعـض الفطريات ومنهـا الفطريـات الجذريـة Mycorrhizae ، أو مثـل بعـض الأحماض الأمينية والأحماض العضوية حيث تساعد كل هذه المركبات فـي تيسير الحديد للنبات . لقد وجد أن جذور بعض النجيليات تقوم بإفراز بعض المركبات المخلبية للحديد الثلاثى Sidrofors وتسمى هذه المركبـات أيضـا بحوامل الحديـد النباتيـة phytosidrofors ومنهـا حمـض الميوجينيـك Mugineic acid وحمض الأفينك Avenic acid (شـكل رقـم ٢٤) وهـى ترتبط بالحديد الثلاثى . لقد تبين أن النبات يقوم بامتصاص المركب الثلاثـى إلى الحديد المخلبى والحديد معاً ليتم إختزال الحديد الثنائى الـذى يسـتخدمه النبات . حيث تكون غالبية الحديد في التربة ليست بالصـورة الميسـرة لأن الحديد يميل إلى تكوين مربكات غير ذائبة ، مثل الأكسيد والهيدروكسيد .

وتعمل هذه المركبات العضوية على عـدم ترسـيب الحديـد بعـد إمتصاصه بواسطة النبات ، خاصة أنيونات الأحمـاض العضـوية ، مثـل السترات ، ولكن قد تسهم الأحماض الأمينية في ذلك أيضاً . ومـن ناحيـة أخرى ، يعتقد البعض أن الحديد قد يترسب داخلياً في خلايا الأوراق علـى هيئة فوسفات الحديد العضوية ، لكن المعروف أن الحديد يكـون معقـدات الحديد البروتينية والتى تسمى الفيتوفريتين (الفريتين النباتى) Phytoferritin والتى تمثل مخزوناً للحديد داخل البلاستيدات الخضراء لوقت الإحتياج إليها.

Mugineic acid حمض الميوجنيك

شكل رقم ٢٣ : الصيغة الكيماوية لحمضين من المركبات الكيماوية المخلبية تشير الأسهم في حمض الميوجينيك إلى موقع إرتباط الحديد

مصادر الحديد في التربة الزراعية Sources of iron in soil

أن محتوى التربة الزراعية من عنصر الحديد يقارب ٥% من وزن قشرة الأرض . والجزء الأكبر من حديد التربة يوجد في الصفائح البلورية للمعادن الأولية . ومن أهم المعادن التى تحتوى على الحديد هى الأكاسيد مثل $Fe_2O_3.H_2O$ Hematite (Fe_2O_3) والكبريتات مثل Pyrite (FeS_2) والكاربونات مثل Siderite ($FeCO_3$) والكبريتات مثل $KFe_3(OH)_6(SO_4)_4$ والسليكات مثل Chamosite – glauconite ومعدن الأولفين $(Mg,Fe)_2SiO_4$. ربما يوجد الحديد أيضاً في صفائح المعادن الثانوية مثل الأليست والكولنيت حيث أن محتوى المعادن الثانوية من الحديد يرجع إلى عمليات التعرية التى تحدث على المعادن الأولية . وأن الحديد الذائب في محلول التربة الناتج من عمليات التعرية الأولية والثانوية يكون قليلاً جداً

مقارناً بالحديد الكلى للتربة الزراعية . والسبب في إنخفاض حديد محلول التربة الزراعية الجاهز للإمتصاص بواسطة النبات هو أن معظم مركبات الحديد السائدة في التربة الزراعية غير قابلة للذوبان في الماء ويضم الحديد المعدنى الذائب في محلول التربة الزراعية الصور $FeOH^{+2}$ ، $Fe(OH)_3$ ، Fe^{+3} ، Fe^{+2} .

احتياجات النبات لعنصر الحديد Plant requirements for iron

وجد أن محتوى التربة الزراعية الكلى من عنصر الحديد يكون أكثر مما يحتاجه النبات وبصورة عامة أن أكثر المحاصيل الزراعية تحتاج إلى ٠,٠٥ جزء في المليون من عنصر الحديد على حين يتراوح مستوى الحديد الكلى إلى ٢٠,٠٠٠ جزء في المليون . وتختلف النباتات من حيث إحتياجاتها لعنصر الحديد لهذا فإن التحليل النباتى يعد عاملاً مساعداً في وضع الخطة التسميدية المناسبة إذ عن طريقه يمكن معرفة مدى إحتياج النبات للعنصر الغذائى بالضبط . ولقد تم تحديد مستويات الحديد التى تسبب حالة النقص في النبات إضافة إلى المستويات المنخفضة والمعتدلة والمرتفعة والمفرطة لأهم المحاصيل الزراعية مقاسة في الأنسجة النباتية بالجزء في المليون .

التحولات الميكروبية للحديد في التربة الزراعية :

Microbial transformations of iron compounds in soil

تشبه التفاعلات التى تحدث للحديد بيولوجيا في التربة الزراعية والمياه تلك التى تحدث في دورة الكبريت حيث يوجد تفاعلات أكسدة وتفاعلات إختزال ، كما يحدث عمليات معدنة لمركبات الحديد العضوية . ومن المعروف أن الحديد يوجد في التربة كمكون أساسى من مكونات

معادنها، وبالرغم من وجوده بكميات عالية نسبياً إلا أن أغلبه يكون في صورة غير ميسرة للنبات وكثيراً ما تظهر بعض الأراضى أعراض نقصه على النباتات . وتلعب التفاعلات الحيوية والكيماوية التى تقوم بها الميكروبات في تحولات الحديد في التربة الزراعية حيث يوجد في التربة مجموعة من الميكروبات الهامة والتى يطلق عليها إسم بكتيريا الحديد Iron bacteria تقوم بأكسدة مركبات الحديدوز Ferrous الذائبة إلى مركبات حديد Ferric غير الذائبة والتى غالبا ما تترسب بكميات كبيرة حول الخلايا في صورة هيدروكسيد حديديك Ferric hydroxide . كثيراً من ميكروبات التربة الهتيروتروفية Heterotrophs يمكنها أن تستخدم أملاح الحديد العضوية الذائبة والموجودة في التربة وتحولها إلى صورة معدنية أقل قابلية للذوبان في محلول التربة . كذلك تحدث بعض ميكروبات التربة الزراعية تغيرات كثيرة في جهد الأكسدة والإختزال Oxidation reduction potential في الوسط الذى تعيش فيه . ويؤدى إنخفاض جهد التأكسد والإختزال الناتج عن نشاط هذه الميكروبات إلى تحول مركبات الحديديك غير الذائبة إلى مركبات حديدوز ذائبة . كذلك يوجد كثير من أنواع البكتيريا والفطريات التى تنتج أثناء نموها وتحليلها للمواد العضوية ، نواتج حامضية التأثير تؤدى إلى زيادة الحموضة في محيط نموها مما يساعد على ذوبان مركبات الحديد في التربة الزراعية . كذلك تؤدى الظروف اللاهوائية إلى تكوين كميات كبيرة من H_2S وهذا يؤدى بدوره إلى ترسيب مركبات الحديد في صورة Ferrous sulfide . هذا وقد يؤدى تكوين الأحماض العضوية في التربة الزراعية أثناء تحلل المواد العضوية إلى إتحادها كيماوياً مع أيونات الحديد الثنائية لتكوين Organic Iron complex والتى تكون أكثر قابلية للذوبان في محلول التربة الزراعية .

بكتيريا الحديد Iron bacteria

تحتوى التربة الزراعية على مجموعة متنوعة من الميكروبات والتى تكون قادرة على أكسدة مركبات الحديد ، وهذه المجموعة تتضمن ميكروبات ذاتية التغذية مؤكسدة للمواد الكيماوية Chemolithotrophs وميكروبات هتيروتروفية Organotrophs وميكروبات إختيارية Facultative lithotrophs .

وكان أول من عزل هذه الميكروبات ودرسها هو العالم Wingoradsky عام ١٨٨٨ حيث أمكنه عزلها من الينابيع المحتوية على حديد ، ووجد أن هذه الميكروبات ترسب الحديد في الغلاف المحيط بها في صورة هيدروكسيد حديديك مما يؤدى إلى ظهور اللون المميز لمركبات الحديد . ثم إتضح بعد ذلك أن البكتيريا القادرة على ترسيب الحديديك تكون واسعة الإنتشار في التربة الزراعية والمياه غير المحتوية على نسبة عالية من الحديد ، كذلك يمكن دراستها في مياه الشرب العادية المعاملة بالمواد المطهرة Treated water . وهذه الميكروبات تحتاج إلى وسط نمو يحتوى على قليل من المواد العضوية الذائبة وأكسجين ذائب وأملاح الحديدوز أو أملاح المنجنوز ، وبعض أنواعها يمكنها أن ترسب الحديد في مياه تحتوى على جزء في المليون فقط من الحديد الذائب . وقد تسبب بكتيريا الحديد إنسداد الأنابيب الحديدية التى تستخدم لتوصيل المياه وذلك نتيجة لترسيبها كميات كبيرة من هيدروكسيد الحديديك حول كمية قليلة من الخلايا الميكروبية. ويصحب نمو بكتيريا الحديد في الماء تكون لزوجة وتغير في اللون ويصبح طعم المياه غير مرغوب فيه . وقد تلجأ البكتيريا إلى حديد الأنابيب نفسها مما يؤدى إلى تآكل الأنابيب بمرور الوقت .

وأغلب أنواع بكتيريا الحديد تكون ذات شكل خيطي معظمها تكــون محاطة بغلاف Sheath من هيدروكســيد الحديــديك أو المنجنيــز . وهــذه الميكروبات يصبعب عزلها وزراعتها في الأوساط الغذائية المعملية . وهــي ميكروبات هوائية حتماً Obligate aerobes لا تنمو في غيــاب الأكســجين وتفضل الأوساط المتعادلة أو المائلة للقلوية .

هذا وتتواجد بكتيريا الحديد غالباً في البيئات السطحية فهي بكتيريــا هوائية توجد في البحيرات والبحار والجداول المائية والأنهــار والأراضــي الرطبة والتربة الزراعية . ويعتبر المصدر الرئيسي لبكتيريا الحديــد غيــر معروف بالضبط ففي بعض الأحيان تتواجد في المــاء الأرضــي والمــاء السطحي أيضاً قد تتواجد به البكتيريا بصورة طبيعية وهناك دلائل مختلفــة على أن بكتيريا الحديد تنتقل من مصدر مياه للمصادر الأخرى عن طريــق المعدات التي تستخدم في عمليات الحفر وعمل القنوات . أيضاً فــإن الميــاه الجوفية قد تتلوث ببكتيريا الحديد من المياه السطحية .

بكتيريا الحديد في التربة الزرعية Iron bacteria in soil

يؤدي تواجد بكتيريا الحديد في التربة الزراعية إلــى الإقــلال مــن صلاحية عنصر الحديد للنبات فهي تقوم بتحويل الحديد من الصورة الذائبــة (الحديدوز) والمتاحة للنبات إلى الصورة المترسبة وغير الممتصة بواســطة النبات (هيدروكسيد حيديدك) والتي تترسب حول أجسامها في راســب بنــي اللون . لذلك فإن البكتيريا المحللة للمواد العضوية في التربة الزراعية أيضاً تلعب دوراً غير مباشراً في عدم إتاحة الحديد للميكروبات في التربة الزراعية حيث أنها تحوله من الصورة العضوية إلى الصورة المعدنية تقــوم بكتيريــا الحديد بأكسدة أملاحه وترسبه على أجسامها . ومن أنواع بكتيريــا الحديــد

الأتوتروفية الحتمية بكتيريـا *Gallionella ferruginea* ، *Thiobacillus ferrooxidans* ، *Ferrobacillus ferrooxidans* والتي تحصل على الطاقة اللازمة لها من عملية أكسدة الحديـدوز إلـى حديـدك . وفـى البكتيريـا *Thibacillus ferrooxidans* على سبيل المثال تتم عمليـة الأكسـدة علـى الغشاء السيتوبلازمى ، وقد أمكن إثبات ذلك بإضافة مادة Triton x-100 إلى الخلايا الميكروبية حيث أنها مادة متخصصة في إذابة الغشاء السيتوبلازمى ، وقد وجد أن ذلك يؤدى إلى إيقاف عملية الأكسدة .

أمـا بكتيريـا الحديـد الأوتوتروفيـة الإختياريـة Facultative autotrorphic bacteria فمنهـا أنـواع تابعـة لأجنـاس *Liptothrix* ، *Sphareotilus* ، وهذه الميكروبات تستطيع النمو على المواد العضوية فـي حالة عدم وجود كميات كافية من أملاح الحديد . وفى هذه الحالـة فإنهـا لا تكون الغلاف المغطى للخلايا من هيدروكسيد الحديديك المميز باللون البنـي ويمكن أن يكون الغلاف عديم اللون . أما عند توفر أملاح الحديد في الوسط فإنها تكون غلافا بنيا من هيدروكسيد الحديديك $Fe(OH)_3$ يحـيط بسلاسـل الخلايا الطويلة . والبكتيريا التابعة لجنس *Sphaerotilus* تكون خلايا سابحة Swarm cells عصوية متحركة بفلاجيلا طرفية Polar أو قريبة من الطرف تترك الغلاف وتسبح في الماء حيث تنتقل إلى مكان جديد تتكاثر فيه مكونـة سلاسل طويلة تحيط نفسها بأغلفة وهكذا .

أما بكتيريا الحديد الهتيروتروفية Iron heterotrophs فهى لابد لهـا من مواد عضوية لنموها ، وعملية أكسدة أملاح الحديد ليس لها أهمية فـي حصولها على الطاقة . ويجب أن نشير إلى أن هناك ميكروبات في التربـة

الزراعية قادرة على أكسدة الحديد تحت الظروف اللاهوائيـة عـن طريـق إختزال النترات .

ويجب ملاحظة أن أكسدة الحديد يمكن أن تتم في التربة بطريقة غير بيولوجية خصوصاً في الظروف المائلة إلى القلوية ، لذلك فإنه عند إختبـار قدرة ميكروبات التربة على أكسدة الحديد بيولوجيا لابد من أخـذ الأكسـدة الكيماوية في الإعتبار . وعلى ذلك يمكن أن تقاس قدرة ميكروبـات التربـة على أكسدة الحديدوز وذلك بإضافة أملاح الحديدوز إلى وسط غذائى أو رمل معقم ثم تلقيحه بمعلق تربة ثم يقدر الحديديك المتكون . وفى نفـس الوقـت يجب أن توجد معاملة مقارنة Control غير ملقحة لبيان الأكسدة الكيماويـة وتطرح قيمته من ناتج الأكسدة في المعاملة الأولى . ولقد أمكن عن طريـق مثل هذه الدراسة إثبات أن الأكسدة البيولوجية أسرع كثيـراً مـن الأكسـدة الكيماوية .

وكما سبق أن أوضحنا أن أغلب بكتيريا الحديد تحصل على الطاقـة اللازمة لها من عملية أكسدة الحديد ، ولكن الطاقة التى تحصل عليهـا مـن عملية الأكسدة قليلة ، لذلك لابد للميكروبات من أكسدة كمية كبيرة من أملاح الحديد للحصول على الطاقة اللازمة لها كالآتى :

$$4FeCO_3 + O_2 + 6H_2O \longrightarrow 4Fe(OH)_3 + 4CO_2 + 40\ K\ cal.$$

ومن هذا التفاعل تبين أن الطاقة الناتجة تساوى 10 K cal لكل جرام ذرة من الحديد تتأكسد (٥٥,٨ جرام حديد) وهذه الطاقة قليلة . وهذا يعنـى قيام هذه الميكروبات بترسيب كميات كبيرة من هيدروكسيد الحديد حول كمية قليلة من الخلايا . ولقد أوضـح (Starkey, 1945) أن الميكـروب يرسـب

كميات كبيرة من الحديد حول جسمه تعادل وزنه ٥٠٠ مرة ، ويترسب أيدروكسيد الحديديك حول الميكروب طبقا للتفاعل التالى :

$$4Fe_2(SO_4)_3 + 6H_2O \longrightarrow 4Fe(OH)_3 + 3H_2SO_4$$

تأثير الميكروبات على مركبات الحديد العضوية

Effect of microorganisms on organic iron compounds

تقوم كثير من ميكروبات التربة الزراعية غير المتخصصة بدوراً هاماً في تغير صور الحديد في التربة حيث تحلل الشق العضوى من مركبات الحديد العضوية ، وهذا يؤدى إلى ترسيب الحديد . ومثل هذه العملية لها تأثيرات كبيرة على جهازية الحديد للنباتات ، لأنها تقلل من الحديد الذائب في التربة . ويجب ملاحظة أن دور هذه الميكروبات في تغير صور الحديد دوراً غير مباشراً حيث يترسب الحديد من خلال إستهلاك هذه الميكروبات للجزء العضوى المرتبط بالحديد ، فينطلق الحديد من المركب العضوى ثم يترسب.

ويمكن توضيح مثل هذا التفاعل بإضافة جزء من التربة إلى محلول يحتوى على Ferric ammonium citrate فيلاحظ أن تحلل السترات بيولوجيا يؤدى إلى ترسيب كميات كبيرة من الحديد في صورة هيدروكسيد حديديك ، ومثل هذه التفاعلات تتم هوائيا ويمكن أن تحدث لأى ملح من أملاح الحديد العضوية .

والميكروبات التى تستطيع القيام بمثل هذا التفاعل تكون واسعة الإنتشار في التربة الزراعية ومصادر المياه مثل مياه الآبار والبحيرات والأنهار وتتبع هذه الميكروبات أجناسا عديدة منها *Aerobacter* ،

Bacillus، *Pseudomonas*، *Serratia*، *Corynebacterium* علاوة على العديد من الفطريات والكتينوميسيتات .

إختزال الحديد في التربة Iron reduction in soil

تكون أغلب كمية الحديد الموجودة في التربة جيدة الصرف ذات البناء الجيد في صورة حديديك غير ذائب ، وجزء ضئيل فقط يوجد في صورة حديدوز ذائب . وإذا أصبحت التربة مغمورة بالماء أو سادت فيها الظروف اللاهوائية فإن محتواها من الحديدوز يرتفع بسرعة ومثل هذا التغير يحدث نتيجة نشاط الميكروبات المحبة لتلك الظروف Anaerobic microbes ويسير الإرتفاع في الحديدوز في خط موازٍ للإنخفاض الذى يحدث في جهد الأكسدة والإختزال Redox potential (Eh) الذى يحدث عادة نتيجة تحلل المواد العضوية تحت الظروف اللاهوائية . وقد لوحظ أن الحديدوز يصبح الأيون السائد في محلول التربة الزراعية عندما يصل قيمة جهد الأكسدة والإختزال إلى أقل من 200 m volt ، وعندما تتحسن ظروف التهوية بالتربة فإن الحديدوز يتحول إلى حديديك ثانية بارتفاع الجهد عن 300 m volt فأعلى .

ولقد وضعت عدة تفسيرات لبيان كيفية إختزال الحديدك عند وجود مواد عضوية وسيادة الظروف اللاهوائية في التربة ، منها أن استهلاك الأكسجين وإنخفاضه يؤدى إلى إختزال الحديديك . ومنها أن نواتج التخمير الميكروبى تؤثر تأثيراً مباشراً على أيدروكسيد الحديديك $Fe(OH)_3$. كما يفسر أيضاً على أساس أن الحديديك من الممكن أن يعمل كمستقبل للإلكترونات في حالة غياب الأكسجين أثناء التنفس بطريقة مشابهة لاختزال النترات Nitrate reduction أو إنطلاق الأزوت Denitrification .

والميكروبات التي تقوم باختزال الحديد في التربة الزراعية هي ميكروبات هتيروتروفية لا هوائية إختيارية Facultative anerobic heterotrophs ، ولكن التفاعل لا يتم إلا في غياب الأكسجين . ولقد وجد أن التربة الزراعية تحتوى على 10^4–10^5/جرام من الميكروبات القادرة على إختزال الحديد مثل *B. polymyxa* ، *B. circulans* ، *Aerobacter aerogenes* ، *Escherichia freundii* . وبالرغم من أن الظروف اللاهوائية تزيد من الحديد الذائب في صورة حديدوز ، فإن المعروف أنه تحت الظروف اللاهوائية قد تؤدى إلى إختزال الكبريتات Sulfate reduction التى تكون H_2S بكميات كبيرة ، وهذا يتفاعل مع الحديدوز المتكون مما يؤدى إلى ترسيب الحديد في صورة Fe غير الذائب مما يقلل من جهازية الحديد للنباتات مرة أخرى .

وعملية الـــGleying في التربة الغدقة أو المرتفعة في مستوى الماء الأرضى ترتبط بنشاط هذه الميكروبات على الحديد ، والأجزاء من مقطع التربة Profiles التى يحدث لها ظاهرة الـــGleying تكون لزجة Sticky القوام ولونها رمادى أو رمادى مزرق Grey light ; grayish-blue . واللون المميز هذا يرتبط بمستوى الماء الأرضى المرتفع وفى التربة الغدقة من خلال تكوين Ferrous sulfide تحت الظروف اللاهوائية ، حيث يتم فيها إختزال كل من الحديد والكبريت فيتفاعل الحديد المختزل الذائب مع H_2S المتكون من إختزال الكبريتات ليكون FeS الذى يَعطى الجزء الذى يحدث فيه العملية لونه المميز . ولقد أوضحت الدراسات أن أعداد بكتيريا الحديد في أفق الـــGleying تصل إلى حوالى 10^7 / جرام .

وتحت الظروف اللاهوائية فإن أنابيب الحديد تتعرض للتآكل باستمرار بحيث تصبح بلا فائدة بعد سنوات قليلة ، ومثل هذه العملية تسبب خسائر ضخمة للمشروعات مثل مشروعات الكبيرة المياه الجوفية وأنابيب توصيل المياه والغاز أو أنابيب البترول وغيرها ، وهذه الخسائر تزداد مع زيادة رطوبة التربة . وعملية التآكل الكيماوية والبيولوجية لا تتم في التربة التي يزيد فيها الـ Redox potential عن 400 m volt. وتصبح عالية عند جهد أقل من 400 m volt. ، وأنسب ظروف للتآكل هي غياب الأكسجين ويكون درجة pH أعلى من ٥,٥ ووجود نسبة عالية من الكبريتات علاوة على وجود المادة العضوية .

أسمدة الحديد Iron containing fertilizers

إن من أهم أسمدة الحديد المستخدمة في الزراعة هي :

١- كبريتات الحديدوز :

إن سماد كبريتات الحديدوز ($FeSO_4.7H_2O$) هو أكثر أسمدة الحديد إنتشاراً واستعمالاً في خصوبة التربة وتغذية النباتات ودرجة ذوبانه أعلى من بقية الأسمدة الحديدية وأكثر جهازية لإمتصاص النبات لـه ويحتوي هذا السماد على ٢٠% حديد .

٢- أوكزالات الحديد :

يصنع هذا السماد ($FeC_2O.2H_2O$) بتفاعل أملاح الحديد الذائبة مع حامض الأوكزاليك ويحتوي هذا السماد على ٣٠% حديد ونصف هذه النسبة تكون ذات صفات مخلبية. وهذا السماد يكون قليل الذوبان في الماء ويكون

جاهزاً وميسراً للنبات عن طريق إضافته إلى الجذور وبصورة عامة يستعمل هذا السماد عن طريق إضافته بالرش .

٣- كبريتات الحديديك :

ويكون سماد كبريتات الحديدك $(Fe_2(SO_4)_3)$ أقل ذوباناً وجهازية من سماد كبريتات الحديدوز ويحتوى على ٢٨ % حديد

٤- أسمدة الحديد المخلبية :

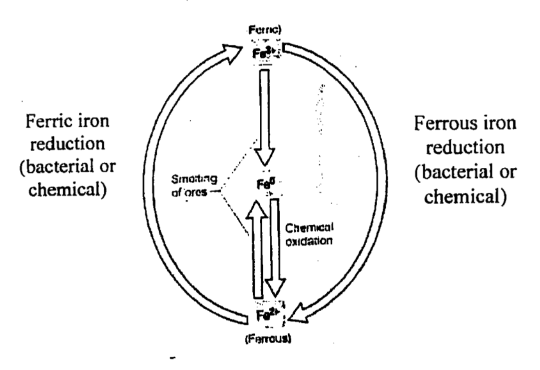
كلمة Chelate أى مخلب هى كلمة مشتقة من كلمة إغريقيـــة هـــى Claw معناها مخلب في الكيمياء العضوية وهى تعنى التركيب الحلقى الناتج من إرتباط أيون بمجموعتين أو أكثر من المجاميع الموزعـــة للإلكترونـــات لتكون جزئية واحدة . والعنصر الذى يخلب أو يرتبط بهذا التركيب الحلقـــى أى يترسب داخل التركيب الحلقى أى أنه يتحول إلى صورة غيـــر جـــاهزة لإمتصاص النبات لها . إن معظم الكاتيونات المتعددة التكـــافؤ تســـتطيع أن تكون مواد مخلبية تختلف من حيث تحررها وأن درجـــة الثبـــات والقـــدرة التبادليـــــــة للعناصـــــــر يمكـــــــن ترتيبهـــــــا كـــــــالآتى $Fe^{3+} > Zn^{2+} > Fe^{2+} > Mn^{2+} > Ca^{2+} > Mg^{2+}$ إن المـــواد المخلبية يمكن أن تستعمل بعدة طرق لعلاج حالة النقص بالعناصر الغذائيـــة ومنها طريقة الرش أو إضافته إلى التربة الزراعية مباشرة. وللمواد المخلبية أنواعاً مختلفة بصفاتها الكيماوية والفزيائية ومن هذه الأنواع المواد المخلبية المؤثرة على التربة الحامضية ، المواد المخلبية المؤثرة على التربة القلوية ، أو تلك المواد ذات التأثير على كل من نوعى الأراضى .

ويشمل الحديد العضوى إضافة إلى أسمدة الحديد المخلبية المصنعة مركبات حديد عضوية معقدة ذائبة لها دور مهم في إمداد النبات بعنصر الحديد وهذه المركبات ربما يكون مصدرها المادة العضوية التى تفرزها جذور النباتات مثل مادة الـRiboflavin المختزلة التى يفرزها نبات عباد الشمس أو مركبات ناتجة من المادة العضوية للتربة متحدة بالعناصر الغذائية مثل Polyphenois Fe^{2+} أو إتحاد العناصر بالأحماض الأليفاتية البسيطة وحامض الفولفيك .

هذا ويمكن تلخيص ما سبق في أنه في حالة التربة المغمورة بالماء يحصل إختزال للحديد من Fe^{+3} إلى Fe^{+2} وهذا يؤدى إلى إلى صورة الحديد الأكثر جهازية لإمتصاص النبات له والأكثر ذوباناً وقد تؤدى عملية الإختزال هذه عن طريق الكائنات الحية الدقيقة غير الهوائية إلى زيادة تركيز الحديد الذائب في محلول التربة إلى حد السمية للنبات . هذه الحالة تكون أكثر إنتشاراً في حقول الأرز وبصورة عامة يمكن القول أنه في التربة الرديئة التهوية يزداد تركيز Fe^{+2} على حساب تركيز Fe^{+3} . وان الأسمدة المخلبية والمركبات العضوية المحتوية على الحديد تحرر الحديد ببطء وتكون مهمة في تجهيز الحديد لجذور النبات . هذا إضافة إلى التحرير البطئ لعنصر الحديد من هذه المركبات والذى يقلل نسبة الحديد الذى يفقد عن طريق الترسيب أو عمليات الأكسدة داخل التربة الزراعية .

كذلك يعتبر إضافة أملاح الحديد المعدنية كثيراً ما تكون بدون تأثير في معالجة الإصفرار الناتج عن نقص الحديد بسبب تحولها السريع إلى أوكسيدات غير ذائبة وحتى المعاملة بالرش في عدد من الحالات تكون نتائجها غير مرضية وناجحة دائماً لذلك ينصح في مثل هذه الحالة إضافة الأسمدة المخلبية المحتوية على الحديد إلى التربة مباشرة أو بالرش .

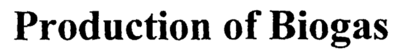
وإن استعمال الأسمدة الكيماوية غير المحتوية على الحديد قد تؤدى في بعض الحالات وبصورة غير مباشرة إلى التقليل من أعراض نقص الحديد مثال ذلك أسمدة النيتروجين المحتوية على الألمونيوم والأسمدة الأخرى المسببة للحموضة فهى تؤدى إلى زيادة جهازية الحديد نتيجة إنخفاض درجة تفاعل التربة . كذلك الأسمدة العضوية قد تؤدى في بعض الأحيان إلى تقليل أعراض نقص الحديد نتيجة تكون مركبات معقدة من الحديد والمادة العضوية التى تحرر الحديد بدورها ببطء . ويبين شكل رقم ٢٤ التحولات الميكروبيولوجية لمركبات الحديد في التربة الزراعية



شكل رقم ٢٤ : التحولات الميكروبيولوجية لمركبات الحديد فى التربة الزراعية

الفصل التاسع :

إنتاج البيوجاز



الفصل التاسع

إنتـــاج البيوجاز

Production of Biogas

تنتج الغازات بوساطة الكائنات الحية الدقيقه Microorganisms أثناء نشاطها وتحليلها للمواد العضويه . ويعتبر البيوجاز الناتج عن الميكروبات إحدى الوسائل الممكن إستعمالها كبديل لمصادر الطاقه التقليديه خاصة فى المناطق الريفية والمناطق النائية التى يصعب توفير البترول لها . وقد أمكن الحصول على غازات قابله للإشتعال نتيجه لتنمية الميكروبات اللاهوائيه Anaerobic microorganisms على المخلفات البرازيه للإنسان والحيوان ، وهى عمليه إقتصاديه بدرجة كبيره حيث أن الماده الخام لا ثمن لها بل أن التخلص منها يعتبر ضروريا لحماية البيئة.

ولقد بدأ الإهتمام بإنتاج الغازات بوساطه الميكروبات منذ زمن بعيد يزيد على المائتى عام ، ثم زاد الإهتمام بهذه التكنولوجيا فى بلاد العالم المتطوره والناميه منذ نهاية الحرب العالميه الثانية World War II وما صادفه العالم من أزمات فى الطاقه Energy crises وزياده فى الطلب على الأسمدة المعدنيه التى إرتفع ثمنها بشكل كبير. ويوجد الأن ألاف الوحدات العامله لإنتاج هذه الغازات فى بلاد عديده فى أوروبا مثل ألمانيا والنمسا وإيطاليا وفى آسيا مثل الهند والصين وأفغانستان وفى أفريقيا مثل أوغندا وكينيا ومن البلاد العربيه جمهورية مصر العربية . وبالنسبه لمصر فقد أنشئ أول مخمر لإنتاج الغازات ميكروبياً عام ١٩٣٩م فى مزرعة الجبل الأصفر بإستعمال مخلفات المجارى ، ثم توالت الدراسات منذ الخمسينيات

وبنى أول مخمر على الطراز الصينى (تحت الأرض) سعة ١٥م٣ عام ١٩٧٨م بكلية الزراعة جامعة القاهرة فرع الفيوم ، وحتى عام ١٩٨٤م كان قد تم إنشاء أكثر من ٤٠ مخمر تعمل فى قرى مصر المختلفة .

المواد القابلة للتخمير لإنتاج البيوجاز Digestable Feedstocks

يمكن إستعمال جميع المخلفات العضويه فى إنتاج الغازات بواسطة الميكروبات ، غير أن أفضل هذه المخلفات من حيث سرعة التخمير هى مخلفات المجارى ، يلى ذلك المخلفات الحيوانيه ثم المخلفات النباتيه ومخلفات التصنيع ومخلفات المنازل . كل هذه المواد تعتبر Feedstocks فى عملية التخمير Digestion لإنتاج البيوجاز Biogas production .

ولما كانت عمليه التخمير هذه تتم بوساطة البكتريا كان من المهم أن يحتوى وسط التخمير على ما يلزم للميكروبات من مصادر الطاقه ، الكربون، النيتروجين لعمليات البناء الخلوى Cell synthesis ، فضلا عن المتطلبات الأخرى من معادن لزوم الأيض البكتيرى . ومما يذكر أن المخلفات البرازيه Faecal wastes ، على سبيل المثال تكون غنيه جداً بمحتواها النيتروجينى ، على حين تكون مخلفات بعض المصانع Factory wastes مثل النشا أو المحاليل السكرية فقيرة جداً فى محتواها النتروجينى . لذلك فإن نسبة الكربون إلى النيتروجين C : N ratio تضبط فى الحاله ألأولى عن طريق إضافة مصدر كربون Carbon source مثل البطاطس أو القش Straw حيث يكون توافر هذا المواد موسميا Seasonally . ولقد وجد أنه بالنسبة للقش الشعير Barley straw على سبيل المثال يكون تحلله غير كامل في مخلفات الخنازير Pig wastes ويكون بطيء التحلل في مخمر Digester يعمل بفترة تسوية Detention time قدرها ١٠ أيام . وعندما تزداد الفترة

إلى ٢٠ يوم فإن حوالي٣٥ % من القش يتم تخميرها Digested إلى غاز . ومن المعروف أن قش الشعير يحتوي على حوالي٧٦ % مواد كربوايدراتية وألياف ، ومن ثم فإن ٥٠ % فقط من المادة الكامنة تتحول إلى غاز Gassified (جداول رقم ٢٥ و٢٦) ومن هذه الجداول نلاحظ أن المغذيات القابلة للتخمر Digestible nutrients للمجترات Raminants تكون فى حدود ٤١ %. وتوضح النتائج بالجدولين أهمية نسبة الـ C : N ، ومن المعروف أن إخراجات الخنزير Pig excreta تحتوى على نسبة عاليه من الأمونيا تظل معدلها ثابت أثناء عملية التخمير ومن ثم فإن إضافة ماده كربوايدراتيه (كربونيه) بقصد موائمة نسبة ال C : N تكون في صالح عملية إنتاج الغاز وبالطبع فإن عملية التخمر تزداد صعوبه وتأخذ وقتا أطول كلما زادت نسبة اللجنين بالمخلفات المضافة (كما فى حالة حطب القطن).

نواتج التخمر Fermentation products

نتيجة لتخمر المواد العضويه بواسطة الميكروبات تحت الظروف اللاهوائيه ، فإنه ينتج خليط من غازات الميثان CH_4 القابل للإشتعال . وثانى أكسيد الكربون CO_2 غير القابل للإشتعال ، بالإضافة إلى غازات أخرى مثل الأيدروجين وكبريتيد الأيدروجين والنيتروجين وثانى أكسيد الكربون وأول أكسيد الكربون (جدول رقم ٢٧) تكون فى مجموعها أقل من٥٠ % من كمية الغاز الناتج وبالإضافه إلى تلك الغازات تنتج عدة أحماض عضويه مثل حمض الخليك Acetic acid أعلى نسبه فيها . وتتوقف نسبة الغازات. الناتجة على الظروف المحيطه بالإنتاج ، ومن بينها طبيعة المخلفات Feedstocks وحرارة ومدة التخمر Detention time .

Table 25 : Gas Produetion from animal excreta

1- **Piggery waste:** Slurry from fattening pigs on dry barley feed . **Detention time** 10 -- 15 days . **Gas** 0.300 m^3 Kg^{-1} **TS** 7 days 0.284 5 days 0.240 3 days 0.170 Below 25^0C and above 45^0C gas production falls off rapidly . Total solids in slurry 2-6.5 per cent .
2- **Poulty waste** . from caged layers, no letter, slurried with water to required TS. **Detention time** 20 days . **Gas** 0.380 m^3 kg^{-1} TS 15 dayes 0.362 At 4% TS slurry, gas 0.480 m^3 kg^{-1} .TS 6% Gas 0.3789 m^3 , 12% gas 0.291m^3.probably due to NH_3 inhibition at higher TS.
3- **Fattening cattle waste,** Slurry from cattle on variety of mixed feeds . **Detention time** 20 days . **Gas** 0.215 m^3 kg^{-1} TS 10 days 0.141 At 5 percent TS slurry , gas 0.189 m^3 kg^{-1} . TS, 8 percent , gas 0.258 m^3 10 percent, gas 0.264 m^3 .Possibly due to low NH_3 in Slurry of low TS
4- **Dairy cattle waste** . Slurry frow cows on silage – concentrate feed . **Detention time** 21 days . **Gas** 0.206 m^3 kg^{-1} TS at 35^0C. 20 days 0.172 m^3 kg^{-1} TS at 25^0C.

Table 26 : Biogas Production from some Vegetable wastes

Substrate	Gas (m^3 kg^{-1} TS)	Methane(%)
Grass hay	0.462	54
Kale	0.440	60
Sugar beet leaves	0.380	66
Maize	0.500	65
Oats	0.470	54
Wheat straw	0.412	58
Lake weed	0.380	56

Slurry 5 percent TS, temp. 37^0C, total reaction time 17–36 days.

جـــدول رقم ٢٧ : أهم الغازات الناتجة من التخمر ونسبتها

الغاز	النسبة (%)
CH_4	70 – 50
CO_2	45 – 30
N_2	5 – 1
SO_2	1 – 0
H_2S	1 – 0

وغاز الميثان CH4 غاز قابل للإشتعال ووجوده مع غاز CO_2 غير القابل للإشتعال يعتبر عاملاً هاما لتعديل درجة إشتعاله ، ولقد وجد أنه عند درجة صفر °م وتحت الضغط الجوى العادى فإن الحرارة الناتجة من لتر واحد من الميثان تساوى ٨,٥ كالورى ، وهى حرارة عالية إذا ما قورنت بغاز الأيدروجين الذى ينتج اللتر منه تحت نفس الظروف ٢,٦كالورى فقط . ومن هنا يتضح لنا الأهميه الإقتصادية لإستعمال غاز الميثان كمصدر للطاقة.

ونظراً لأن غاز الميثان Biogas هو المستهدف من الإنتاج البيولوجى (حيث ينتج كإحدى الوسائل الممكن إستعمالها كبديل لمصادر الطاقه التقليديه فى بعض المناطق الخاصه) فيطلق على عملية إنتاجه الأسماء الأتيه : .Biomethane Biomethanation , Methanogenesis production ,

طاقة الميثان Energy of Methane

عند حرق غاز الميثان مع الأكسجين يحدث التفاعل التالى :

$$CH_4 + 2O_2 \longrightarrow CO_2 + 2H_2O$$

وبذلك تنطلق الطاقة فى صورة حراره وذلك من كمية الطاقه الزائدة عن التغير فى الروابط الكيميائيه بالوقود المؤكسد $CH_4 + O_2$ إلى غاز وماء $CO_2 + H_2O$ علما بأن الطاقه الكلية فى النواتج تكون أقل من تلك الموجوده بالوقود قبل الإحتراق $CH_4 + O_2$ حيث أن جزء من هذه الطاقه ينطلق كحرارة وضوء داخل اللهب ذاته . وإذا قورنت كمية الحراره الناتجه من الميثان بكمية الحراره فى الغاز الطبيعى المستخرج من باطن الارض مع البترول والفحم فإننا نجد الأتى :

الغاز الطبيعى ⟵ يعطى 10.000 كيلوكالورى / م^3 .
غاز الميثان ⟵ يعطى 8.000 كيلوكالورى / م^3 .

أى أن كمية الحراره الناتجه من غاز الميثان تقارب تلك الناتجه من الغاز الطبيعى كما أننا نلاحظ الأتى :

١ كيلو جرام وزن جاف من الماده العضويه $\xleftarrow[\text{أكسجين}]{\text{الحرق}}$ 4500 كيلو كالورى

بالتخمير

١ كيلو جرام وزن جاف من الماده العضويه ⟵ 0.5 م^3 بيوجاز
لا هوائيا
⟵ 4000 كيلو كالورى

فعلى الرغم من أن كمية الحراره المنتجه بالتخمير اللاهوائى من وحدة الوزن الجاف ماده عضوية أقل من ٤٠٠٠ كيلو كالورى من تلك الناتجة بالحريق ٤٥٠٠ كيلو كالورى إلا أن ما يتبقى من بقايا التخمير من سوائل ومخلفات صلبه ذات أهميه كبيرة حيث تستعمل كاسمده عضوية عالية القيمة والفائدة .

الأهميه الإقتصاديه للبيوجاز Economic importance of biogas

يستعمل الغاز الناتج فى أغراض عديده منها :

١. التدفئه والإناره والطهى وتوليد الكهرباء ....الخ أى يستخدم كبديل لمصادر الطاقه التقليدية .

٢. إنتاج البروتين الميكروبى (SCP) Single cell protein وذلك باستعمال الغاز لتنمية بعض البكتيريا مثل *Pseudomonas methanitrificans* ، ومعروف أن هذا الميكروب يستعمل الميثان كمصدر وحيد للكربون Sole source of carbon ، كما أنه يقوم بتثبيت نيتروجين الهواء الجوى. ولقد وجد أنه عند تخمير ١ طن من زرق الدجاج تحت ظروف لاهوائيه وإمرار الغازات الناتجة فى بيئة خالية من الكربون والنيتروجين وملقحة بالميكروب السابق ومحضنة على درجة٣٠°م لمدة أسبوعين أنه نتج ٢٨,١٧ كيلو جرام من الخلايا البكتيرية Biomass الجافة التى تحتوى على ١٥,٨٥كيلو جرام بروتين خام.

٣. علاوه على الإستعمالات السابقة فإن من فوائد عملية تخمير المخلفات بهذه الطريقه هو إستعمال النواتج الأخرى لعملية التخمير Digested slurry

وهى مخلفات أونواتج صلبه Sludge تستعمل كسماد عضوى للأراضى إذ أنها بحق سماد غنى بالعناصر NPK ومعظم المغذيات العنصرية الصغرى . مخلفات أو نواتج سائله Effluent تستعمل فى رى المزروعات وتسميدها كما يمكن إستعمالها فى تنمية الطحالب الخضراء عليها مثل طحلب *Chlorella ellipsoides* الذى يستعمل وينتج لتغذية الأسماك أو كمصدر جيد للبروتين فى العلائق الحيوانية أو فى إنتاج البيوجاز مرة أخرى . كذلك التخلص من المخلفات الأدميه والحيوانيه خاصة فى الريف مثل القرى والنجوع مما يؤدى إلى رفع المستوى الصحى بالتخلص من التلوث الميكروبى والحد من إنتشار الذباب والبعوض وبالتالى الإقلال من إنتشار الأمراض . هذا علاوة على توفير غاز قابل للاشتعال فى الريف بديلاً للأحطاب والمخلفات النباتيه التى يمكن إستخدامها كسماد عضوى .

ومن الجدير بالذكر أن النواتج الصلبه Sludge الناتجة عن عملية التخمر قيمتها كسماد تفوق قيمة السماد العضوى المصنع بالطرق التقليديه حيث أن الفقد فى الماده العضويه والنتروجين يقل بدرجه ملحوظه (جدول رقم ٢٨) فى حالة المنتج التخميرى مما يزيد من قيمته كسماد .

جدول رقم ٢٨ : مقارنة السماد الناتج من العمليه التخميريه بسماد عضوى ناتج بالعمليه التقليديه على أساس الكميه فى الحالتين هى١٠٠٠ كيلو جرام مخلفات أبقار Cow dung (N_2= 0.25 %).

الخاصيه	طريقة الإنتاج	
	طريقه تقليدية	عن مخمر غازى
- مقدار الفقد (بالتحليل) فى الماده العضويه	500 كيلو جرام	270 كيلو جرام
- مقدار الفقد (بالتحليل) فى النيتروجين	1.25 كيلو جرام	صفر
- النسبه المئويه للنيتروجين فى المنتج النهائى على أساس الوزن الجاف	% 1.00	% 1.5
- كمية الغاز الناتجه	صفر	2000قدم مكعب

هذا فضلاً عن ن عملية الهضم أو التخميرالغازى Digestion تقلل كثيراً من تعداد الميكروبات الممرضة Pathogenic microorganisms وبذورالحشائش فى المخلفات الأصليه Original excreta . أيضا فإن تجميع المواد البرازيه الحيوانيه بكميات ضخمة كأسلوب تجميعى تقليدى ومايعقبه من روائح فى الجو القريب منها يعد أمراً مقلقاً للصحه العامه.

الكائنات الممرضة بالمخلفات Pathogenic microorganisms in wastes

تقع الكائنات الممرضة التى توجد بالمخلفات البرازية الأدمية أو الحيوانيه فى أربعة مجاميع رئيسية هى:

1.- Viruses , e.g . , *Poliomylitis* , *Hepatitis* ,

2.- Bacteria , e.g . , *Salmonellae* , *Shigellae* , *Escherichia coli* , *Mycobacterium tuaberculosis* , *Leptospira*

3.- Protozoa , e.g . , *amoebic dysentery*

4.– Helminths, e.g . , round , pin , tape hook worms .

وفى عملية تخمير هذه المخلفات عند درجة ٣٥°م لمدة اسبوعين لإنتاج الغاز ، فإن نسبه كبيرة قد تصل إلى أكثر من ٩٠% من هذه الكائنات الممرضة يموت ، خاصة الميكروبات المعوية المرضة ، غير أنه لوحظ أن بعض الكائنات الممرضة خاصة بويضات ديدان الإسكارس Round worms تعتبر شديده المقاومه وتبقى حية بعد عملية التخمير . وفى هذه الظروف فإنه ينصح قبل وضع المخلفات بالهاضم لإنتاج البيوجاز ، يعمل Precomposting تحت ظروف لاهوائيه لمدة ٣ – ٤ أيام لهذه المخلفات للتخلص مما بها من كائنات ممرضة .

تكوين غاز الميثان بيولوجيا Methanogenesis

تم عملية إنتاج غاز الميثان بيولوجيا من المخلفات العضويه نتيجه لتعايش مجموعة كبيرة من الميكروبات منها غير المكون للميثان Non – Methanogenic وكذا المختص بتكوين الميثان Methanogenic . فالميثان هو أكثر صور المركبات العضويه إختزالا ، وتكوينه يعتبر الخطوط النهائية فى السلسلة الغذائية Food chain للكائنات الدقيقه المخمرة Fermentative Microorganisms . وتبدأ الخطوات الأولى من تحلل المخلفات العضوية هوائيا، ثم باستمرار عملية التحلل يقل الأكسجين تدريجياً حتى تسود فى النهاية الظروف اللاهوائيه التى تناسب تكوين غاز الميثان . وبذلك فإن دور الفطريات فى هذه العمليات محدوداً جدا لظروف التخمر اللاهوائية غير المناسبة لها. ومن الجدير بالذكر أيضا أن بكتيريات الميثان Methane bacteria لا يمكنها أن تستعمل المركبات العضوية المعقدةComplex orgamic compounds . فهى تنمو على مواد مثل:

($H_2 + CO_2$) ، فورمات ، ميثانول ، خلات طبقا لما يلى:

$$CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O$$
$$4HCOOH \longrightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$$
$$4CH_3OH \longrightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$$
$$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$

لكن أهم المواد التى تعتمد عليها هذه البكتريات فى الطبيعه هى CO_2 + H_2 والخلات Acetate . وعلى ذلك يمكن تلخيص عملية تحلل المواد العضوية والتكوين البيولوجى للميثان فى المراحل الأتيه :

١. **المرحلة الأولى : وقد تسمى مرحلة تكوين الأحماض Acid forming stage**

وفيها تنشط البكتريا المترممة العضوية والكروية مثل :
Bacillus cereus ، *B.* megaterium ، *Ruminococcus* ، *Bacteroides* ، *Clostridium* وتحلل المواد العضويه العقدة إلى مواد أبسط منها ، لتنتج فى النهايه: أحماضاً عضويه دهنيه قصيرة السلسلة مثل : الفورميك ، الخليك ، البروبيونيك ، البيوتريك ، اللاكتيك وكحولات بسيطة مثل : الميثانول ، الإيثانول ، البروبانول ، الأيسوبروبانول ، البنتانول كذلك ينتج غازات مثل (H_2S, NH_3, H_2, CO_2) أى أن:

$$\text{Organic compounds}\begin{cases}\text{Carbohydartes}\\ \text{Proteins}\\ \text{Fats}\end{cases}\begin{matrix}\text{Sugars}\\ \text{Amino acids}\\ \text{Fattyacids, glycerol}\end{matrix}$$

$$\left.\begin{matrix}\text{Sugars}\\ \text{Amino acids}\\ \text{Fatty acids}\end{matrix}\right\rangle \xrightarrow[\text{anaerobes}]{\text{Acid producing bacteria}} \text{Alcohols, organic acids, } CO_2 , H_2$$

٢. **المرحلة الثانية : وهى مرحلى تكوين حمض الخليك والأيدروجين**

Fatty acids $\xrightarrow{H_2 \text{ producing acetogens}}$ acetate + CO_2 + H_2

وبذلك يكون قد توافر في وسط النمو الـ H_2 ، CO_2 ، Formate ، Methanol ، Acetate فنصل بذلك إلى المرحلة الثالثة وهى تكوين الميثان.

٣. **المرحلة الثالثة: وهى تكوين الميثان من CO_2 ، H_2 الفورمات، الميثانول ، الخلات كما يلى:**

أ- تكون الميثان من CO_2+H_2 :

كل البكتيريا المنتجة للميثان Methanogenic bacteria التى عزلت حتى اليوم يمكنها أن تنمو معتمدة على CO_2+H_2 ولقد درست التفاعلات الخاصة بتكوين الميثان باستخدام الأنواع *ruminantium* *Methanobacterium* ، *M. thermoautotrophicum* ، *Methanobacterium* . ويسير إختزال CO_2 إلى CH_4 خطوة خطوة لكن المركبات الوسطيه Intermediates وهى الفورمات ، الفورمالدهيد ، والميثانول تظل مرتبطه بشده على حوامل Carriers لا تزال لليوم المعرفة بها غير كاملة . ولقد إكتشف حديثا أحد هذه الحوامل أى العوامل المساعده بوساطه وولف Wolfe ومساعدوه والعامل اللمسى المكتشف هو Coenzyme M وهو 2-mercaptoethane sulfonic acid حيث

Coenzyme M : $HS - CH_2 - CH_2 - SO_3H$ وأيضا
Methylcoenzyme M : $CH_3 - S - CH_2 - CH_2\ SO_3H$

ويعتقد أن Methylcoenzyme M هو المنشئ Precursor المباشر للميثان ، وفضلاً عن ذلك فإن المركب Methylcobalamin يصلح أيضا كوسيط .

ب- تكون الميثان من الفورمات:

تعتبر الفورمات Good substrate لكثير من البكتريا المكونة للميثان، وهى تتحول أولاً إلى CO_2+H_2 ومن ثم فهى ليست منشئ مباشر Direct precursor للميثان كما يلى :

$$4HCOOH \xrightarrow{\text{formate dehydroogenase}} 4CO_2 + 4H_2$$

$$CH_4 + 2H_2O \longrightarrow CO_2 + 4H_2$$

Sum

$$4HCOOH \longrightarrow CH_4 + 3HCO_2 + 2H_2O$$

جـ - تكون الميثان من الميثانول :

يعتبر الميثانول Good substrate للميكروب *Methanosarcina barkeri*، وهى تعد مادة منشأة Direct precursor بطريقه مباشرة للميثان.
ويحتوى هذا الميكروب على نظام إنزيمى يمكنه من تحويل الـ

hydridocobalamin + methanol إلى $methyl - B_{12}$ والأخير ينشأ عنه تكون الميثان . كما يلى :

$$CH_3OH + B_{12}s \xrightarrow{\text{several proteins and cofactors}} CH_3\text{–}B_{12} + H_2O$$

والقوه الإختزاليه Reducing power اللازمه لتكوين الميثان من $CH_3 - B_{12}$ عن طريق $CH_3 - COM$ تنشط بأكسدة الميثانول إلى CO_2 ويكون محصلة Stoichiometry هذه العملية التخميرية كما يلى :

$$CH_3OH + H_2O \longrightarrow CO_2 + 6H$$

$$3CH_3OH + 6H \longrightarrow 3CH_4 + 3H_2O$$

$$Sum: 4\ CH_3OH \longrightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$$

وأكسدة الميثانول إلى CO_2 تسير عن طريق (Methyltetrahydrofolate) (Methy – H_4 folate) ، (Methylene – H_4 folate)، (Methenyl – H_4 folate) و(Formyl – H_4 folate) ومن المركب الأخير تتكون الفورمات بوساطة Synthetase formyl – H_4 folate كما يلى :

$$ADP + Pi + formyl\text{–}H_4\ folate \rightleftarrows Formate + H_4\ folate + ATP$$

ومن ثم ، فإنه اثناء أكسدة الميثانول Methanol oxidation تتكون جزيئات ATP بالميكانيكية المعروفة بإسم Substrate level phosphorylation والخطوة النهائية فى الأكسده تنشط Catalyzed بوساطة Formate delydrogenase الذى ينقل الأيدروجين إلى العامل المساعد (F_{420}) كما يلى :

$$HCOOH + F_{420} \rightleftarrows CO_2 + reduced\ F_{420}$$

د- تكون الميثان من الخلات :

تعتبر الخلات أهم مادة يتكون منها الميثان Methonogenic فى رواسب البحيرات Lake Sediments . فهى تخمر بوساطه *Methanosarcina barkeri* ، *Methanospirillum hungatii* وبكتريات أخرى من مكونات الميثان إلى ميثان + CO_2 .كما يلى:

$$CH_3 - COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$

ويعتقد أن CO_2 ينشأ عن مجموعة الكربوكسيل ، ولكن ميكانيكية هذه العملية التخمرية لا يزال يكتنفها الغموض .

ومن الجدير بالذكر هنا أنه يفرض إستخدام ١٠٠ وحدة كربون للتخمير اللاهوائى بوساطه بكتريا الميثان Methanogenic bacteria ففى المتوسط يتحول ٥٠ % من الكربون إلى بيوجاز ، ٥ % من الكربون يثبت ويمثل بأجسام الميكروبات (البكتريا) القائمة بالتخمير ، ٥ % تقريباً من الكربون تتبقى بمخلفات بقايا العملية التخميرية .

وبالمقارنة بعمليات التخمرالهوائية Aerobic fermentations نلاحظ أن كمية الكربون التى تمثل (تثبت) فى أجسام البكتريا وهى فى حدود ٥ % تعتبر نسبه قليلة إذا ما قورنت بما يحدث فى عمليات التخمر الهوائى حيث أنه فى تلك الحالة تقوم الميكروبات الهوائية بتمثيل وتثبيت حوالى ٤٠ % من كربون المادة العضوية فى أجسامها .

البكتيريا المنتجه للبيوجاز : Biogas producing bacteria

ينتج غاز الميثان بواسطه بكتيريا عديدة يطلق عليها المسميات:

Methanogenic bacteria ، Methane formers ، Methanogens

وهى ذات أشكال مورفولوجية وتراكيب مختلفة . وبسبب درجة التخصص العالية فى مصادر حصولها على الطاقة ، إحتياجها إلى ظروف لاهوائيه حتما Very strict anaerobic conditions لكى تنمو بل ونعرضها للموت بسرعة على أثر فترات ضئيلة جداً من التهويه مقارنة بغيرها من اللاهوائيات يجعل فرصة عزلها بغير المتخصصين فى البحث عنها تكون قليله جداً . وعلى أية حال فبكتريا الميثان Methane bacteria لها صفات مزرعية وفسيولوجية متشابهة ، ولقد ثبت أنها تحتوى على مركب فلوريسنتى Fluorescent compound يرمز له بـ F_{420} يعمل حامل

للأيدروجين Hydrogen carrier وهذا المركب الفلوريسنتى لم يوجد قط فى أى كائنات دقيقة أخرى ، وبسبب خاصية الوميض فيه Strong fluorescence فإن بكتيريا الميثان يسهل التعرف عليها وتميزها فى ميكروسكوب الوميض Fluorescence microscope .

ورغم أن بكتريا الميثان تعد بروكاريوتات Procaryotes إلا أنها تختلف فى منشئها وتطورها الوراثى أى أنها phylogenetically different عن البكتريا القياسية أو غالبية البروكاريوتات وكذلك عن الكائنات الايوكاريوتية Eucaryotes لدرجة أنه فى آخر وأحدث تقسيم للبكتيريا خصص لها قسم خاص باسم Archaeobacteria يضم عدد ١١ إحدى عشرة جنساً كما يلى :

1. Genus *Methanococcus*
2. Genus *Methanobrevibacter*
3. Genus *Methanomicrobium*
4. Genus *Methonospirillum*
5. Genus Methan osarcina
6. Genus *Methanococcoides*
7. Genus *Methanothermus*
8. Genus *Methanolobus*
9. Genus *Methanoplanus*
10. Genus *Methanogenium*
11. Genus *Methanothrix*

هذا علاوة على بعض الأجناس الأخرى التى ليست مكونة للميثان ولكن تشترك مع بكتيريا الميثان فى خصائص أخرى أهلتها لأن يطلق عليها إسم Archaeobacteria وهى البروكاريوتات التى تفتقر لوجود الببتيدو جليكان فى جدرها الخلوية والمحتوية على فوسفوليبيدات Phospholipids بروابط أثيريه Ether bonds بدلاً من الروابط الأسترية Ester bonds

العادية ، هذا علاوة على خصائص أخرى تميز هذه المجموعة من البروكاريونات عن غيرها .

ويجدر أن نشير إلى أن الطبعه الثامنة من كتيب برجى لتمييز البكتيريا التى صدرت عام ١٩٧٤م كانت قد خصصت جزء هو Part 13 مستقلاً تحت مسمى Methan producing bacteria لها حيث وضعت ونوقشت كل البكتيريا المكونه للميثان فى عائله واحدة هى . Fam Methanobacteriaceae شملت وقتها ثلاثة أجناس فقط أحدهما خصص للأشكال العصوية rods هو جنس *Methanobacterium* والثانى للكرويات أى المكورات المفردة أو ذات التجمعات غير المنتظمة وهو *Methanococcus* والثالث للمكورات التى تتجمع فى مكعبات Packets وهو *Methanosarcina* . ولكن فى عام ١٩٧٩م قام Balch وآخرين بنشر إقتراح تقسيم جديد للبكتيريات المنتجة للميثان (جدول رقم ٢٩) . ثم بعد ذلك وفى عام ١٩٨٤م ظهر التقسيم الحديث للبكتيريات (الطبعه التاسعة من كتيب برجى) والذى أفرد لها فصلاً خاصاً تحت مسمى Archaeobacteria .

Table 29 : Taxonomy of Methanogenic bacteria*

ORDER	FAMILY	GENUS	SPECIES
Methanobacteriales	*Methanobacteriaceae*	*Methanobacterium*	*M. formicivm*
			M.bryantii
			M. thermoautotrophicum
		Methanobrevibacter	*M. ruminantium*
			M. arboriphilus
			M. mithii
Methanococcales	*Methanococcaceae*	*Methanococcus*	*M. vannielii*
			M. voltae
Methanomicrobiales	*Methanomicrobiaceae*	*Methanomicrobium*	*M. mobile*
		Methanogenium	*M. cariaci*
			M. marisnigri
		Methanospirillum	*M. hungatei*
	Methanosarcinaceae	*Methanosarina*	*M. barkeri*
		Methanothrix	*M. soehngenii*

(*) Baich, W.E.; Fox, G.E; Magrm, L.J.woese, C.R. & Wolfe,(1979).

Methanogenic revolution of a unique biological group. Microbiol. Rev.43,260-296.

العوامل المؤثرة على إنتاج البيوجاز :

Factors affecting biogas production

هى ذاتها العوامل التى تؤثر على نشاط الميكروبات المنتجة للغاز ومن بين تلك العوامل ما يلى :

١. **درجة الحرارة:** أغلب الميكروبات المنتجة للبيوجاز محبة للحرارة المتوسطة أى Mesophilic وعلى ذلك فإن درجة الحرارة المناسبه للإنتاج هى حوالى ٣٠°م .

٢. **درجة الحموضة** : ينتج الميثان نتيجة لتعاقب النشاط الميكروبى على المخلفات العضوية ، وفى مرحلة وسطية من التخمر يزداد تراكم الأحماض العضوية وبذلك يصبح الوسط حامضى غير مناسب لبكتريات الميثان ، وقد تفشل عملية إنتاج الغاز لهذا السبب . لذلك فإن عملية توازن مناسبة لتطور الحموضة بالوسط أثناء التخمير (بإضافة الجير أن لزم الأمر مثلا) تساعد على زيادة كفاءه العملية إذ يناسب بكتيريات الميثان الوسط المتعادل أو القريب منه (pH 6.8-7.2).

٣. **تراكم الأيدروجين:** يتكون H_2 أثناء تخمر المخلفات ، ويدخل فى عملية التخمير وتكوين الميثان ، غير أن تراكمه ضار جداً بالعمليه حيث يؤدى إلى تكوين كحولات (أو أحماض) وبذلك يقل إنتاج الميثان ، لذا يجرى إختبار دورى أثناء التخمر لمعالجة الموقف فور حدوث تراكم للأيدروجين.

٤. **تراكم كبريتيد الايدروجين:** تراكم H_2S بالمخمر وزيادته عن 200 p.p.m يكون ضار بعملية تكوين غاز الميثان ، لذا يحول إلى أملاح كبريتيد . ويعود التأثير الضار لغاز H_2S على عملية تكوين غاز الميثان ، إلا أن له تأثير سام على البكتريات المنتجة لغاز الميثان كما أنه يرسب العناصر

النادرة مثل الحديد ، النيكل ، الكوبالت ، المولبدنيوم ، وبذلك يحد من إستفادة بكتيريات الميثان من هذه العناصر .

٥. **غياب الأكسجين** : كما ذكر سابقاً ، فإن بكتيريات إنتاج الميثان لاهوائيا حتماً ، وهى حساسه لوجود أقل آثار من غاز الأكسجين حيث تقتلها فوراً. لذلك يلزم توفير وسط خال من الأكسجين فى مرحلة معينه (O_2 – Free phase).

٦. **التسمم الأمونيومى** (Ammania toxicity) : تتراكم الامونيا بالهاضم Digester نتيجة لعملية التخمر ، فإذا ما زاد تركيزها عن 2000 ppm فإن هذا يثبط عمل بكتيريات الميثان . ويقلل التأثير التسممى للأمونيا بالتحميل المناسب للهاضم والتخفيف المرغوب للخليط وتقصير زمن التخمير .

٧. **التحميل (Loading)**: مدى ملأ الهاضم بالمخلفات يؤثر على إنتاج الغاز ويتحكم فى عملية الملأ سعة الهاضم ودرجة تخفيف الخليط بالماء وحرارة وسط التخمير .

٨. **التخفيف (Dilution)**: كلما زاد تخفيف المخلفات بالماء فى الهاضم كلما تحصلنا على نتائج أفضل لأن الماء يعمل على طرد الهواء من الهاضم قبل بدء الإنتاج كما يساعد علي تكاثر الميكروبات وتجانس توزيعها فى الخليط وتقليل اللزوجة بها. وتختلف نسبة التخفيف حسب نوع المخلفات من واحد مخلفات : واحد ماء . وقد تزداد حتى تصل إلى ١٠ ماء فى بعض الحالات .

اللزوجة (Viscosity): زيادة لزوجة الخليط الجارى تخميره أثناء الإنتاج بسبب الصموغ والمواد المعقدة المتكونة يثبط من نشاط بكتيريات الميثان وتمنع تجانس إنتشارها بالخليط – ويقلل من تأثير هذا العامل بالتحميل المناسب للهاضم وزياده تخفيف المخلفات .

١٠. **التقليب** : تزود بعض وحدات الإنتاج بمقلبات Blenders ، وهذه تساعد على زيادة كفاءة الإنتاج نتيجة لجودة تقليب وخلط المكونات والتوزيع المتجانس للميكروبات بالخليط وتكسير الصموغ والرغاوى المتكونة ، كما أن تكون أغشية Scum فوق سطح المواد المخمرة بالهاضم يمنع إنسياب الغاز ، لذا يلزم تكسيرها بين حين وآخر .

١١. **طبيعة المخلفات المضافة**: المواد المستعملة هى المخلفات الآدمية والحيوانية والنباتية . وقد إمتد المجال لتشمل مخلفات المجارى والمصانع . ويتوقف الإنتاج ونسبة الغازات على طبيعة تلك المخلفات وتركيبها الكميائى من حيث عناصر NPK ونسبة ك : ن (سبق أن تعرضنا لها).

وتعتبر المخلفات ذات النسبة 30 C : 1 N من أنسب المخلفات لعمل ونشاط البكتيريات المنتجه لغاز الميثان . وتعتبر المواد الغنية فى النيتروجين كمخلفات الإنسان والطيور بصفه عامه أفضلها . وإذا كانت المخلفات فقيره فى النيتروجين والفوسفور فيجب إضافة هذه العناصر بكميات مناسبه للخليط. وكلما زادت نسبة اللجنين Legnin بالمخلفات المستعمله كلما إزدادت صعوبة عملية التخمير وطالت مدتها كما فى حالة إستعمال حطب القطن ، وفى هذه الحالة فإنه ينصح بعمل Precomposting لمثل هذه المخلفات قبل وضعها فى الهاضم لإنتاج البيوجاز.

وتضاف المخلفات إلى الهاضم على دفعات Batches أو مستمرة Continuous وذلك حسب طريقة التخمير المستعملة ، ويتم سحب البقايا من أسفل الوحده Unit .

١٢. **مدة التخمير** : تتوقف على العوامل السابقة وقد تصل إلى أسبوعين أو أكثر .

عملية الإنتاج : Biomethanation

تقام وحده إنتاج البيوجاز قرب أماكن توفر المخلفات العضويه ومصدر المياه وقرب أماكن إستخدام الغاز الناتج . وتتكون الوحده من :

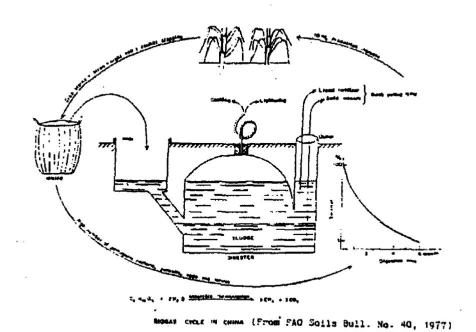
١. **الهاضم (Digester)**: وهو الجزء الأساسى بالوحده وفيه توضع المخلفات وتتم عملية التخمر ميكروبيا لإنتاج البيوجاز.
٢. **مخزن تجميع الغازات (Gas holder)** : وفيه تجمع الغازات الناتجه من الهاضم ، ومنه يوجه الغاز إلى أماكن الإستعمال.
٣. **أحواض تجميع وخلط المخاليط .**
٤. **مجموعة من أنابيب والوصلات (Pipeline and pipe fittingo)**: وتقام وحدة الإنتاج فى مكان مكشوف معرض

للشمس بعيداً عن مستوى الماء الأرضى (يكون على بعد ٥م على الأقل من السطح طوال العام) . وطبيعة ونظام بناء الوحده يتوقف على ظروف المنطقة المحلية وما يتوفر بها من خامات . وتقام الوحدة بالقرية لخدمة منزل واحد Family Project أو عده منازل متجاورة بدلاً من وحدات منفصلة لخدمة القرية Community Project.

الهاضم Digester

يختلف حجم الهاضم وهو وحدة إنتاج الغاز الحيوى بإختلاف كمية المخلفات المطلوب تخميرها . فالوحده ذات الحجم ٢م٣ يلزم لها يوميا ٤٠ كيلوجرام من الروث (٢-٣ بقرات) وتنتج ٧٠قدم٣ من البيوجاز يوميا . بينما الوحدة التى حجمها ١٠م٣ يلزم لها ٢٠٠كيلوجرام روث يوميا وتنتج ٣٥٠ قدم٣من الغاز يوميا.

ويوجد نظامان لبناء الهاضم : أولهما النظام الهندى ، والثانى النظام الصينى وفى كلا النظامين يبنى الهاضم تحت سطح الأرض ، أما مخزن تجميع الغازات فيوجد فوق سطح الأرض فى النظام الهندى ، والشكل رقم ٢٥ يبين دورة البيوجاز فى النظام الصينى . ويبنى الهاضم فى النظام الهندى تحت سطح الأرض فى صورة حجره أسمنتية أسطوانية بارتفاع ٤٠٥ متر فقط ٢متر (للنوع المعتاد) ، وبه حاجز طولى يقسم الحجرة إلى قسمين لزيادة كفاءة التخمير ، وبكل قسم أنبوبة معدنية واحدة لدخول المخلفات Inlet والأخرى لخروج Outlet البقايا بعد الإستعمال. وبجوار أو أعلى الهاضم (شكل رقم ٢٦) يقام مخزن تجميع الغازات Ggas holder ومن المعروف أن هذا الهاضم يغطى تكاليف إنشائه فى خلال ثلاث سنوات ويمكن أن يستمر فى العمل لمدة عشرة سنوات .



BIOGAS CYCLE IN CHINA (From FAO Soils Bull. No. 40, 1977)

شكل رقم ٢٥ : دورة البيوجاز فى النظام الصينى

التخمير على مرحلتين Two Phase Digester

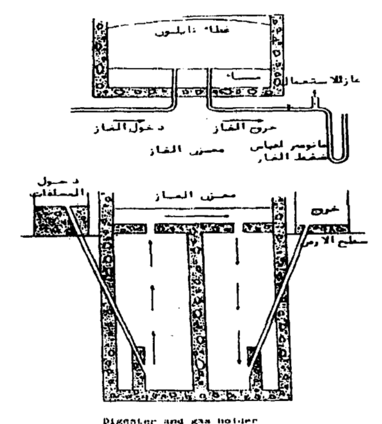
من التعديلات التى أجريت فى مصر على نظام التخمير بهدف تحسين عملية إنتاج غاز الميثان هى إجراء عملية إنتاج البيوجاز فى مخمرين بدلا من مخمر واحد . وفى هذا النظام تفصل عملية التخمير Digestion الخاصة بإنتاج المركبات الوسطية ، عن عملية إنتاج الميثان اى الخاصه بتحويل نواتج التخمر إلى ميثان ، حيث أن ميكروبات كل عمليه لها الظروف البيئيه الخاصة بها من ناحية Eh ، pH . ففى المخمر الأول يتم تحلل المخلفات العضوية لتكوين الأحماض والمركبات الوسطية ثم تسحب السوائل المتخمرة بمضخات وتنقل إلى المخمر الثانى الخاص بتكوين الغاز. وباجراء عملية التخمير على مرحلتين ، فإننا نزيد من كفاءة عملية إنتاج الغاز الحيوى.

وذلك بتوفير الوسط المناسب لبكتيريا الميثان فى المخمر الثانى ، حيث تعتبر الحموضة العالية المتكونة فى المخمر الأول من العوامل المثبطة لها . بالإضافة إلى ذلك فإنه يمكن وضع إطارات فى المخمر الثانى من مادة Rubber foam 2 × 1م مقواة بخيوط بلاستيك تعتبر كدعامات تستقر عليها بكتيريا الميثان لتنمو وتتكاثر . ومن الإتجاهات الجارية الأن فى مصر إستخدام الطاقة الشمسية لتسخين محتويات المخمر خاصة أيام الشتاء وإستخدام طاقة الرياح لتقليب محتويات المخمر .

تشغيل الهاضم :

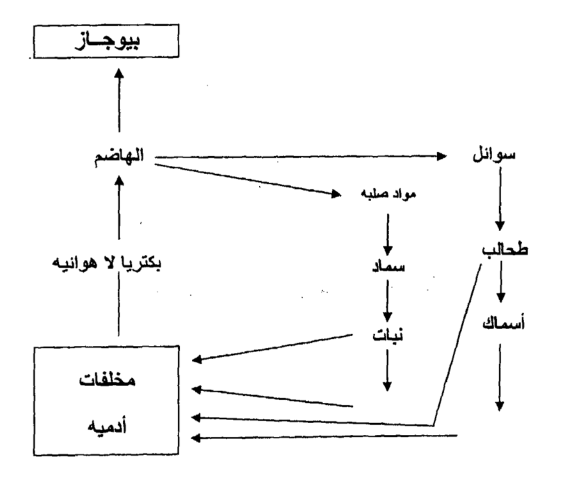
عند بدء التشغيل ، يملأ الهاضم بمخلوط من المخلفات والماء ، ثم يتم التوصيل بخزان الغاز الذى يمتلئ فى فتره يتراوح من ١٥ –٢٠ يوم ، ويراعى التخلص من هذه الكميه الأولى من الغاز حيث أنها تكون مختلطة

بالهواء وعند اشتعالها تحدث إنفجاراً لذلك يستعمل البيوجاز كوقود عند خلوه من الهواء . ويلاحظ أن كمية الغاز الناتجة فى فصل الشتاء تقل بدرجة ملحوظة لإنخفاض درجة الحرارة فى الهاضم وللتغلب على ذلك يستعمل ماء دافئ فى تخفيف المخلفات أو توصل بمكثف للطاقة الشمسية . والغاز الناتج من الهاضم عبارة عن هو خليط الغازات أغلبها الميثان CH_4 وثانى أكسيد الكربون CO_2 (راجع جدول رقم ٢٧) .



شكل رقم ٢٦ : مقطع فى الهاضم ومخزن تجميع الغازات كما ينفذ فى مصر تطويراً للنظام الهندى

لذلك يجب العمل على التخلص من الغازات التى تقلل من كفاءه البيوجاز كوقود ، فمثلاً CO_2 يقلل من درجة إشتعال الميثان . إذا كانت كميه H_2S كبيرة فإنها تسبب تآكل لجميع الأنابيب المعدنيه علاوة على رائحته الكريهه وتأثيره السام على بكتيريا الميثان . والشكل رقم ٢٧ يوضح الدورة المتكاملة لإنتاج البيوجاز .



شكل رقم ٢٧ : دورة إنتاج البيوجاز فى الطبيعة

المراجع

References

المراجع

References

سامى محمد شحاته ومحمد راغب الزناتى وبهجت السيد على (١٩٩٣) . الأسمدة العضوية والأراضى الجديدة – الدار العربية للنشر والتوزيع – القاهرة – مصر .

سعد على زكى محمود (١٩٨٨). ميكروبيولوجيا الأراضى – الطبعة الأولى – مكتبة الأنجلو المصرية – ش محمد فريد – القاهرة – مصر.

سعد على زكى محمود وعبد الوهاب عبد الحافظ ومحمد الصاوى مبارك (١٩٨٧). ميكروبيولوجيا الأراضى – مكتبة الأنجلو المصرية – ش محمد فريد – القاهرة – مصر.

عبد الوهاب عبد الحافظ ومحمد الصاوى مبارك (١٩٩٦) . الميكروبيولوجيا التطبيقية – المكتبة الكاديمية – ش التحرير – الدقى – القاهرة – مصر .

مارتن ألكسندر (١٩٨٢). مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة – جون وايلى – نيويورك – الطبعة الثانية – مكتبة الأهرام – القاهرة – مصر.

ماهر جورجى نسيم (١٩٨٩). الأسمدة وخصوبة التربة – وزارة التعليم العالى والبحث العلمى – جامعة الموصل.

محمد نبيل علاء الدين وآخرون (١٩٨٣) . البيوجاز للريف المصرى : طاقة، سماد ، علف – وزارة الزراعة المصرية – الجيزة – مصر .

محمدين حمد محمد الوهيبى (٢٠٠٣). التغذية المعدنية في النبات – مطابع جامعة الملك سعود.

Alexander , M. (1971).Microbial Ecology, John wiley & Sons Inc . New York.

Alexander, M. (1982). Introduction to Soil Microbiology. The 2nd ed., John Wiley & Sons Inc. New York.

APH. (1989). The biogas technology in China, Agriculture publishing house, Chengdu biogas research institute of the ministry of agriculture, China.

Badger , D. M., Bogue, M.J. and Stewart,D.J. (1979). Biogas production from crops and organic wastes. I: Results of batch digestion . New Zealand J.Sci. 22 : 11 – 20.

Badger, D. M., Bogue, M. J. and Stewart, D.J. (1979). Biogas production from crops and organic wastes, 1. Results of batch digestion, New Zealand Journal of Science, 22. 77-20.

Balch,W.E.,Fox,G.E.,Magrum , L.J.,Woese,C.R. and Wolfe,R.S. (1979). Methanogenic revolution of a uniqe biological group . Microbiol.Rev. 43 : 260 – 296.

Bansal, R. K. (1980). Laboratory Manual in Organic Chemistry. Wiley Eastern Ltd, New Delhi.

Dewis, J. and F. Freitas (1970). Physical and chemical Methods of Soil and Water Anaysis. Food and Agriculture Organization, UN, Rome.

El-Agrodi, M.W.; El-Fadaly, H. Shams El-Din, H.A. and El-Shehawy, A.M. (2003). Effect of phosphorus fertilization and grains inoculation with phosphate dissolving bacteria on microbiology of rhizosphere, yield and yield component of wheat plant. J. Agric. Sci., Mansoura Univ., 28(8): 6353-6369.

El-Fadaly, H.; El-Agrodi, M.W.; Shams El-Din, H.A. and El-Shehawy, A.M. (2003). Effect of phosphorus fertilization and seeds inoculation with phosphate dissolving bacteria on microbiology of rhizosphere, yield and yield component of faba bean plant. J. Agric. Sci., Mansoura Univ., 28(8): 6371-6388.

Hobson , P . N ., Bousfield . S.and Summers , R. (1980). Methane production from Agricultural and Domestic Wastes. Appl . Sci.Publishers,Barking ,England .

Holt, J. G., Krieg, N. R. Sneath, P. H. A., Stanley, J. T. and Williams, S. T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The 9th ed., Williams & Wilkins, Baltimore, USA.

Krishna, G. and Ranjhan, S. K. (1980). Laboratory Manual for Nutrition Research. Vikas Pub. House PVTLTD, New Delhi.

Prasad, C.R. Prasad, K.K. and Reddy, A.K.N. (1974). Biogas plants: prospect, problems and tasks. Economic and Political Weekly, India.

Rahman, M.H. (1996). Biogas: environmental aspects and potential for generation in Bangladesh, P., K.V.J. Env. Educ. and Inf., UK.

Rajabapaiah, P., Ramanaiah,K.V., Mohan,S.R. and Reddy, A.K.N.. (1979). "Studies in Biogas Technology: Part I- Performance of a Conventional Biogas Plant," Processings of the Indian Academy of Sciences C2 pp. 357-64.

Shukla, R.S. and Chandel, P.S. (1985). Plant Ecology. Chand, S & Cenp. LTD, Ram Nagar, New Delhi.

Sinha, B.P.(1984). Basic principles of digester design, Proc. of the Seminar on biogas from human excreta. Sulabh international Patna, Bihar, India.

Subba Rao, N. S. (ed.) (1982). Advances in Agricultural Microbiology. Oxford & IBH publishing Co., New Delhi, India.

Sylvia, D.M.; Fuhrmann, J.J.; Hartel, P.G. and Zuberer, D. A. (1998). Principles and applications of soil microbiology. Prentice-Hall Inc., New Jersey, USA.

WHO (1984). World Helth Organization, Guidelines for Drinking Water Quality. Vol. 1. Recommendation, Helth Center and Other Supporting Informations. Geneva, pp : 53-60.

Yagodin, B.A. (1984). Agricultural chemistry 1. Mir Publishers, Moscow.

Yagodin, B.A. (1984). Agricultural chemistry 2. Mir Publishers, Moscow.

أبحاث منشورة للمؤلف

1. **Abdel-Aziz, F.A.; El-Fadaly, H.; Ismail, I.; Kassem, M. and El-Hersh, M. (2000).** Potentialities of some synthesized metallic complexes on biogenic amines formation by bacteria. The 8th IBN SINA Inter. Conf. on Pure and Appl. Heterocyclic Chem., Feb. 16-19, Luxor, Egypt, P: 302.
2. **Abdel-Baky, N.F.; Abdel-Salam, A.H. and El-Fadaly, H. (2003).** *Pulvinaria tenuivalvata* (Newstead) and its natural enemies in ratoon sugar cane at Dakahlia Governorate. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 28(7): 2699-2712.
3. **Abdel-Baky, N.F.; El-Fadaly, H.; M.E. El-Nagar; Nehal Arafat and R. H. Abd-Allah (2005).** Virulence and enzymatic activities of some entomopathogenic fungi against white flies and aphids. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 30(2): 1153-1167.
4. **Abdelhamid, M. A.; H. A. El-Fadaly and S. N. Ibrahim (2007).** Studies on integrated fish/duck production system : I- On water quality and fish production J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 32 (7): 5225-5244.
5. **Abdelhamid, M. A.; H. A. El-Fadaly and S. N. Ibrahim (2007).** Studies on integrated fish/duck production system : II- On duck production. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 32 (8): 6239-6248.
6. **Dina, Makia; El-Fadaly, H.; M. M. El-Dafrawy (2007).** Aluminum evaluation in drinking water. J. Environ. Sc., 33 : 105-119.
7. **El-Agrodi, M.W.; El-Fadaly, H.; Shams El-Din, H.A. and El-Shehawy, A.M. (2003).** Effect of phosphorus fertilization and grains inoculation with phosphate dissolving bacteria on microbiology of rhizosphere, yield and yield component of wheat plant. J. Agric. Sci., Mansoura Univ., 28(8):6353-6369.
8. **El-Badrawy, E.E.Y. and El-Fadaly, H. (2000).** Antibacterial activities of citrus peel extracts against some pathogenic

bacteria. Home Econ. Future Prospects, Helwan Univ. Suppl. of the 6th Sci. Conf. Home Econ., 23-24 April, 206-221.

9. **El-Badrawy, E.E.Y. and El-Fadaly, H. (2002).** Antifungal and antioxidative activities of some phenolic acids extracted from bees honey propolis. Mansoura Sci. Bull. (A. Chem.), 28(1), Suppl., of the 6th Inter. Conf. Chemistry and its Role in Development. Mansoura Univ., 17-20 April, 285-306.
10. **El-Defrawy, M.; El-Fadaly, H.; El-Zawawy, F. and Makia, D. (1998).** Assessment of trace metal ions on raw and treated water in Dakahlia drinking water purification station. The Inter. Conf. Hazardous Waste, Cairo, Egypt, 12-16 December, 187-191.
11. **El-Fadaly, H. (1993).** Profiles of continuous fermentation for thermostable alkaline proteinase. The 5th European Conf., SFM Institute Pasteur, Paris, France, 3-4 April, P: 87.
12. **El-Fadaly, H. (1996).** Biohydrolysis of some poultry by-products. 1. Factors involved in keratinase production from feather under mesophilic conditions. Arab Univ. J. Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo, 4(1&2):39-52.
13. **El-Fadaly, H. (1997).** Efficacy of certain plant extracts on some phytopathogenic fungi. The 9th Conf. Microbiol., Cairo, Egypt, 25-27 March, 241-257.
14. **El-Fadaly, H. (2000).** Microbial treatment of food industrial effluent: A review. The 1st Mansoura Conf. Food Sci. & Dairy Technol., 17-19 Oct., 263-279.
15. **El-Fadaly, H. and Afify, A.H. (1995).** Some properties of thermostable neutral protease produced by *Bacillus stearothermophilus*. J. Agric. Sci., Mansoura Univ., 20(4):1429-1440.
16. **El-Fadaly, H. and El-Badrawy, E.E.Y. (2000).** Inhibition of eneteric pathogens in milk using citrus peel extracts and associative effect on the growth of lactic acid bacteria. Symp. Food Add., 10-11 May, Alex., Egypt, P: 10-11.

17. **El-Fadaly, H. and El-Badrawy, E.E.Y. (2000).** Relationship between chemical composition and inhibitory effect of plant extract on food-contaminating fungi. Conf. Social & Agricultural Develop. Sinai, Suez Canal Univ., Al-Aresh, North Sinai, Egypt, 16-19 May, 453-459.
18. **El-Fadaly, H. and El-Badrawy, E.Y. (1998).** Antimicrobial potentialities of peel extracts of some *Citrus spp.* The 8th Inter. Conf. "Environmental Protection is a Must", Alex., Egypt, 5-7 May, 273-282.
19. **El-Fadaly, H. and El-Badrawy, E.Y. (2001).** Flavonoids of propolis and their antibacterial activities. Pakistan J. Biol. Sci., 4(2):204-207.
20. **El-Fadaly, H. and Ibrahim, G.A. (1998).** Effect of citrus peel extracts on some pathogenic bacteria compared to some lactic acid bacteria. Egypt. J. Appl. Sci., 13(7B):536-550.
21. **El-Fadaly, H. and Nyeste, L. (1993).** Growth characteristics of a thermoproteolytic bacterium in continuous flow cultivation. Europ. Sympo. Biocatalysis, Graz, Austria, 12-17 Sept., P: 59.
22. **El-Fadaly, H. and Sevella, B. (1992).** Production and characterization of *Bacillus* enzyme, thermostable proteinase. The Inter. Conf. Thermophiles: Science and Technology, Reykjavik, Iceland, 23-26 August, P: 21.
23. **El-Fadaly, H. and Zaied, K.A. (1997).** Efficiency of bioconversion of chicken feather by transconjugated bacterial strains. Bull. Fac. Agric., Cairo Univ., 48(2):329-350.
24. **El-Fadaly, H. and Zaied, K.A. (1997).** Microbial degradation of chicken feather in batch culture. Proc. Mini-Symposium on Biosorption and Microbial Degradation V, Prague, 24-28 Nov., 12-14.
25. **El-Fadaly, H. and Zaied, K.A. (1997).** Yield and relative increase of feather biohydrolysis products by *Micrococcus* strains. The 9th Conf. Microbiol., Cairo, Egypt, 25-27 March, 266-276.

26. **El-Fadaly, H. and Zaied, K.A. (1999).** Microbial degradation of native keratin in batch fermentation. Pakistan J. Biol. Sci., 2(3):627-634.
27. **El-Fadaly, H. El-Defrawy, M. El-Zawawy, F and Makia, D. (2001).** Chemical and microbiological evaluation of River Nile water in Dakahlia governorate . J. Envron. Sci., Mansoura Univ., 22, 1-18.
28. **El-Fadaly, H.; A. El-Gamal; M. Kassem and Amany El-Deeb (2006).** Chemical and bacteriological quality of farm and retail milk samples. The 8 Sci. Vet. Med. Conference, Zagazig University, Aug. 31-Septe. 3, Hurghada, Red Sea, A.R.E., 431-446.
29. **El-Fadaly, H.; A. El-Gamal; M. Kassem and Amany El-Deeb (2006).** Detection of some bacterial enzymes in raw milk samples. The 3rd Arab Mansoura Conf. Food and Dairy Sc. & Technol., Mansoura Univ., 20-23 Nov., Hurghada, Red Sea, A.R.E., 1-13.
30. **El-Fadaly, H.; Abdilla, F.S. and El-Badrawy, E.Y. (1999).** Comparative study between Yemeni and Egyptian types of honey by means of antibacterial activity. Pakistan J. Biol. Sci., 2(1):1-6.
31. **El-Fadaly, H.; El-Agrodi, M.W.; Shams El-Din, H.A. and El-Shehawy, A.M. (2003).** Effect of phosphorus fertilization and seeds inoculation with phosphate dissolving bacteria on microbiology of rhizosphere, yield and yield component of faba bean plant. J. Agric. Sci., Mansoura Univ., 28(8):6371-6388.
32. **El-Fadaly, H.; El-Badrawy, E.E.Y. and Abou-Zeid, A. (2000).** Relationship between chemical composition and inhibitory effect of plant extracts on food contaminating fungi. The 9th Inter. Conf. Egypt. Soc. Inf. Control, 24-26 Oct., Faculty of Medicine, Mansura Univ., Mansoura, Egypt, P: 82.
33. **El-Fadaly, H.; El-Defrawy, M.; El-Zawawy, F. and Makia, D. (1998).** Quality of some groundwater samples and heavy

metals removal of wastewater by microorganisms. The 4[th] Inter Conf. Potable Water Management and Water Treatment Technologies, Cairo, Egypt, 3-5 December, 1-13.

34. **El-Fadaly, H.; El-Defrawy, M.; El-Zawawy, F. and Makia, D. (1998).** Chemical and microbiological analysis of certain water sources and industrial wastewater samples in Dakahlia governorate. Inter. Conf. Hazardous Waste, Cairo, Egypt, 12-16 December, 217-225.
35. **El-Fadaly, H.; El-Defrawy, M.; El-Zawawy, F. and Makia, D. (1999).** Microbiological and chemical aspects on some fresh water and industrial waste water samples. Pakistan J. Biol. Sci., 2(3):1017-1023.
36. **El-Fadaly, H.; El-Defrawy, M.; El-Zawawy, F. and Makia, D. (2000).** Chemical and microbiological analyses of certain water sources and industrial wastewater samples in Egypt. Pakistan J. Biol. Sci., 3(5): 777-781.
37. **El-Fadaly, H.; El-Defrawy, M.; El-Zawawy, F. and Makia, D. (2003).** Reduction of heavy metals from some industrial wastewater by some heterotrophic bacteria. J. Product. & Dev., 8(2):361-375.
38. **El-Fadaly, H.; El-Gamal; M. Kassem and Amany El-Deeb (2005).** Inhibation of zonotic bacteria obtained from milk samples using some plant volatile oils . The 2[nd] Arab Mans. Conf. Food & Diray Sci. & Technol., 22-24 March, 67-81.
39. **El-Fadaly, H.; El-Gammal, M. I.; S. El-Sayed and Dina Maki (2007).** Applicability of biosorption technology to remediate metal-containing tanning process industrial effluent. J. Union Arab Biol., Cairo, 27 A : 225-244.
40. **El-Fadaly, H.; El-Laithy, B.E.A. (2008).** Biological activity of Egyptian propolis against some postharvest phytopathogenic fungi. Egyp. J. Appl. Sci. 23 (9): 36-43. prsented in the 4[th] Annual Inter. Sci. Conf. of the Egyptian Society of Everomental Texicology 11-14 Nov. 2008.

41. **El-Fadaly, H.; El-Laithy, B.E.A. (2008).** Eccicacy of propolis as natural bioagent against soil born phytopathogenic fungi. Egyp. J. Appl. Sci. 23 (9): 44-53.
42. **El-Fadaly, H.; El-Shabrawy, H.M.; El-Deeb, M.M. and Mehrez, A.Z. (2003).** Effect of formaldehyde treatment of concentrate feed mixture and source of roughage on fermentation and some bacterial activities in the rumen of sheep. The Proc. of 9th Sci. Conf. on Animal Nutrition and Feeds Part II, 14-17 Oct., Hurghada, Egypt, 1131-1142.
43. **El-Fadaly, H.; Fatma, I. El-Hawary; S. A. El-Saied and Amal Y. El-Shafey (2008).** Production of single cell oil from corn gluten meal by *Candida* lipolytica. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 33 (7): 5245-5255.
44. **El-Fadaly, H.; Fatma, I. El-Hawary; S. A. El-Saied and Amal Y. El-Shafey (2008).** Conversion of corn gluten to microbial oil by Rhodotorula glutinis. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 33 (7): 5271-5281.
45. **El-Fadaly, H.; H. M. Fathy, E.E. Thaewat and A.A. Tolba (2007).** Antifungal activity of honey bees propolis ethanolic extrac. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 32 (7): 5697-5707.
46. **El-Fadaly, H.; Hamed, M.; Kassem, M. and Hassan, F. (1998).** Detection of some microbial enzymes in curing solution and chemical description of meat during the curing process. Egypt. J. Nutrition. XIII (1): 94-114.
47. **El-Fadaly, H.; Hamed, M.; Kassem, M. and Hassan, F. (1998).** Detection of some microbial enzymes in curing solution and chemical description of meat during the curing process. J. Home Econo. Minufiya Univ., 8 (4): 27-43.
48. **El-Fadaly, H.; Hassan, B. and El-Badrawy, E.Y. (1999).** Antifungal potentialities of some plant extracts compared to some yeasts and bacteria. The African J. Mycol. Biotechnol., 7(3), Suppl. II. of the 2nd Inter. Conf. Fungi; Hopes & Challenges, Cairo, 29th Sept. – 1st Oct., 95-108.

49. **El-Fadaly, H.; Ibrahim, I. and Hamdy, N. (2002).** Isolation and identification of keratinase producing bacteria. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 27(6):4083-4095.
50. **El-Fadaly, H.; Ibrahim, I. and Hamdy, N. (2002).** Optimization for bacterial keratinase production in a low cost medium. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 27(6):4097-4113.
51. **El-Fadaly, H.; Ibrahim, I.; Kassem, M. and El-Hersh, M. (1996).** Microbiological examination and quantitation of some biogenic amines in contaminated meat at low temperature. Proc. Food Borne Cont. & Egypt. Health Conf., Mansoura Univ., 26-27 Nov., 321-332.
52. **El-Fadaly, H.; Ibrahim, I.; Kassem, M. and El-Hersh, M. (1997).** Inhibitory effect of some plant extracts on food borne bacteria. Mansoura Med. J., 27(1&2):259-272.
53. **El-Fadaly, H.; Ibrahim, I.; Kassem, M. and El-Hersh, M. (2002).** A trial to reduce production of toxic biochemical substances in contaminated food. Egypt. J. Chem., 45(1):165-177.
54. **El-Fadaly, H.; Ibrahim, I.; Kassem, M. and El-Hersh, M. (2002).** Growth inhibition of biogenic amines producing bacteria isolated from food samples. The 2nd Conf. Food borne Contamination and Egyptians Health, 23-24 April, Mansoura Univ., El-Mansoura, Egypt, 271-285.
55. **El-Fadaly, H.; Ismail, I.; Kassem, M. and El-Hersh, M. (2002).** A trial to reduce production of toxic biochemical substances in contaminated food. J. Drug Res. Egypt, 24(1-2):167-172.
56. **El-Fadaly, H.; Kassem, M. Hamed, M. and Hassan, F. (2000).** Description of microbial and chemical changes during the tenderization process of buffalo meat. J. Agric. Sci.; Mansoura Univ., 25(1):451-462.
57. **El-Fadaly, H.; Kassem, M. Ibrahim, I. and El-Hersh, M. (2002).** Detection of biogenic amines and microbiological evaluation of some food samples. The 2nd Conf. Food borne

Contamination and Egyptians Health, 23-24 April, Mansoura Univ., El-Mansoura, Egypt, 255-269.

58. **El-Fadaly, H.; Mehrez, A.; El-Ayouty, E.; Gabr, A. and El-Deeb, M. (2001).** Response of ruminal fermentation parameters to different ratios of diets. The 2[nd] Inter. Conf. Animal Prod. & Health in Semi-Arid Areas, 4-6 Sept., El-Arish, North Sinai, Egypt, 213-226.
59. **El-Fadaly, H.; Nasr, S.A. and Zin El-Din, M. (1999).** Effect of citrus peel extract on enteric pathogens and lactic acid bacteria in milk. Symp. Starter Culture and Their Use in Dairy Industry. Alex., Egypt, 15-17 Nov., P: 175-176.
60. **El-Fadaly, H.; S. El-Said; M. El-Gammal and D. Makia (2006).** Bacterial treatment of tanning industrial by-products, The 3[rd] Int. Conf. for Develop. and the Environ. In the Arab World, Assiut Univ., Assiut, Egypt, 21-23 March, 41-52.
61. **El-Fadaly, H.; Sanad, M.I. and Erian, N.S. (1996).** Biochemical evaluation of microbiologically treated poultry feather and processed cattle hair. Proc. Food Borne Cont. & Egypt. Health Conf., Mansoura Univ., 26-27 Nov., 333-343.
62. **El-Fadaly, H.; Sevella, B. and Nyeste, L. (1993).** Fermentation and properties of thermostable proteinase. Acta Alimentaria, 22(2):97-106.
63. **El-Fadaly, H.; Sevella, B. and Nyeste, L. (1993).** Optimization of culture medium composition for proteolytic enzyme production. The Inter. Conf. Thermophiles, 12-15 Dec., Hamilton, New Zealand, P: 51.
64. **El-Fadaly, H.; Sevella, B. and Nyeste, L. (1993).** Purification and kinetics of a thermostable alkaline proteinase. The Inter. Conf. Thermophiles, 12-15 Dec., Hamilton, New Zealand, P: 27.
65. **El-Fadaly, H.; Sevella, B. and Szigeti, L. (1991).** Production of detergent proteinase in a low-cost medium. The Inter. Conf., COBIOTECH: Biotechnology East and West. Bratislava, CSFR, 3-5 Nov., P: 64.

66. **El-Fadaly, H.; Sevella, B. and Szigeti, L. (1992).** Production of detergent proteinase in a low-cost medium. The 3rd Inter. Cong., SFM, Lyon, France, 21-24 April, P: 159
67. **El-Fadaly, H.; Sevella, B. and Szigeti, L. (1992).** Thermostable alkaline proteinase, fermentation and properties. Acta Biol. Deb. Suppl., (Prescsencyi ed.), Debrecen, Hungary, 54-59.
68. **El-Fadaly, H.; Sevella, B. and Szigeti, L. (1992).** Thermostable proteinase: Fermentation and properties. Fermentation Colloquium Hajduszoboszlo, Hungary, 22-24 April, P: 55.
69. **El-Fadaly, H.; Slim, A.E.; Afify, A.H. and A. Abd El-Rahman (2006).** The use of suger beet industrial by-products for amylases production by *Aspergillus fumigatus*. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 31(4):2345-2358.
70. **El-Fadaly, H.; Zaied, K. and Hamdy, N. (2003).** Effect of gamma irradiation treatment on keratinase production of *Bacillus licheniformis* strain. Egypt. J. Microbiol., 38 (3): 297-310.
71. **El-Gammal, M. S. El-Sayed; H. El-Fadaly, and D. Makia (2006).** Microbial treatment of sugar beet industrial effluent. J. Environ. Sc., Mansoura Univ., 31 : 129-152.
72. **Elhassaneen, Y.A.; El-Fadaly, H. and Dewan, N.E. (2003).** Bioremoval of toxic substances from edible oils as affected by deep-fat frying process. Pakistan J. Biol. Sci.,6 (24) : 1979-1990.
73. **El-Hawary, Fatma; El-Fadaly, H. and Sabrien A. Omer (2007).** Color elimination of molasses by microorganisms. The 1st Inter. Conf. Environ. Sciences. Mansoura-Hurghada 13-16 March, MO 29.
74. **El-Shabrawy, H.M. and El-Fadaly, H. (2006).** Effect of feeding regime and formaldehyde treatment of diets for crossed friesian cows on their milk productivity and microbiology. Egypt. J. Animal Product. 43 (1): 25-39.

75. **Farid, B.; M. El-Harsh; Ismail; H. El-Fadaly, and Samia Hawas (2004).** Biogenic amines in food : occurrence , therapeutics and toxicity. The 2nd Annual Environ. Conf., 13-15, April, Mansoura, Egypt, P: 59.
76. **Ismail, I.; Kassem, M.; El-Fadaly, H. and El-Hersh, M. (2000).** Microbiological studies on biogenic amines. I. Potential effect of lactic acid bacteria on biogenic amines producing bacteria. The 3rd Inter. Cong. FASBMB, 14-16 Nov., Sonesta Hotel, Cairo, Egypt, P: 235-236.
77. **Kosba, Z.A.; El-Fadaly, H. and Zaied, K.A. (1997).** Effect of caffeine on base-pair substitution and frameshift mutagenesis induced in *Salmonella typimurium*. Mansoura J. Forensic Med. Clin. Toxicol., 5(2):17-34.
78. **Nashy, E. H. A., El-Fadaly, H., Ahmady, A. M., Ismail, S. A. and N. H. El-Sayed (2005).** Enzymatic bacterial dehairing of bovine hide by a locally isolated strain of *Bacillus licheniformis*. J. Sci. Lether Technol. Chemist., 89 (6) : 242-249.
79. **Selim, A.E.; El-Fadaly, H.; Afify, A.H. and Abd El-Rahman, A. (2003).** Production of cellulolytic enzymes by *Trichoderma viride* grown on sugar beet industrial wastes. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 28 (12): 8407-8417.
80. **Sevella, B.; El-Fadaly, H. and Szigeti, L. (1991).** Screening and optimization of thermostable proteinase producing bacterial strains. The 33rd IUPAC Congress, Budapest, Hungary, 17-22 August, P: 198. (Member of Executive Committee).
81. **Zaied, K.A. and El-Fadaly, H. (1997).** Use of transconjugant vigour for efficient bioconversion of feather waste. Bull. Fac. Agric. Cairo Univ., 48(3):529-548.
82. **Zaied, K.A. and El-Fadaly, H. (1998).** Regression analysis of feather biodegradation data. Alex. J. Agric. Res., 43(2):191-204.

رقم الإيداع
٦٢٥١/ ٢٠٠٨
6251/ 2008
الترقيم الدولى
٩٧٧ - ٦١٨٦ - ٥٩ - ٩
I.S.B.N 977 - 6186 - 59 - 9


AlAqsa
253